ARCHIV

FÜR

ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT

PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



ELFTER BAND

MIT 53 TEXTFIGUREN UND 30 TAFELN



LEIPZIG UND BERLIN

VERLAG VON WILHELM ENGELMANN

1913

Inhalt des elften Bandes

Erstes Heft

Ausgegeben am 22. Juli 1913

Zweites Heft

Ausgegeben am 16. September 1913

Drittes Heft

Ausgegeben am 28. Oktober 1913

Viertes Heft

Ausgegeben am 9. Dezember 1913.

Über den feineren Bau der Mitteldarmzellen einiger Nematoden.

Von

Maria Quack.

(Aus dem Zoologischen Institut Heidelberg.)

Mit 8 Textfiguren und Tafel I—III.

Die vorliegende Arbeit wurde im zoologischen Institut zu Heidelberg ausgeführt. Sie beschäftigt sich mit den Mitteldarmzellen einiger Nematoden, die zwar zum Teil in neuester Zeit schon wiederholt bearbeitet worden sind, an welchen jedoch noch vieles zweifelhaft ist, wie die sich häufig widersprechenden oder unsicheren Resultate der verschiedenen Arbeiten beweisen. Interessant sind die Zellen besonders wegen ihrer feinen histologischen Differenzierungen. Ich begann mit dem Studium der Darmzellen von *Ascaris megalocephala* und *lumbricoides*, deren Bau besonders verwickelt ist. Zum Vergleich zog ich später andre Nematoden hinzu, so *Sclerostomum equinum*, *Sclerostomum quadridentatum*, *Ascaris mystax*, *Ascaris gibbosa*, *Strongylus paradoxus*, *Heterakis vesicularis* u. a. Dabei ergab sich, daß die Verhältnisse bei *Sclerostomum equinum* besonders interessant und dazu wenig bekannt sind. Die an diesem Objekt gewonnenen Kenntnisse konnte ich dann wieder beim erneuten Studium am Darmepithel einiger Ascariden verwerten.

Material und Technisches.

Mein Material erhielt ich zum größten Teil aus dem Mannheimer Schlachthof, wo mich Herr Obertierarzt Müller aufs freundlichste mit verschiedenen Nematodenarten versorgte. Auch an dieser Stelle sage ich ihm dafür meinen besten Dank.

Die ihrem Wirte entnommenen Tiere wurden lebend der Länge nach aufgeschnitten, der Darm herausgenommen, quer zerschnitten, und in die Fixierungsflüssigkeit getan. Nur wenn es sich um Beziehungen zwischen dem Darm und den übrigen Organen der

Tiere handelte, wurden die ganzen Würmer quer in Stücke zerlegt, die klein genug waren, um von der Fixierungsflüssigkeit rasch durchdrungen zu werden. — Zur Fixierung wurden zahlreiche Gemische angewandt. Hauptsächlich aber benutzte ich das CARNOYsche und das FLEMMINGsche Gemisch, die sich am günstigsten erwiesen. — Die Paraffinschnitte wurden so dünn wie möglich hergestellt. Wenn das Objekt recht klein und die Temperatur beim Schneiden nicht zu hoch war, wurden die Schnitte nicht dicker als 2 μ, häufig dünner. Das Zusammenschieben der Schnitte ließ sich vielfach dadurch vermeiden, daß sie beim Schneiden auf einen Tropfen Eiswasser hinaufglitten, den ich auf das Messer gebracht hatte. Bei *Sclerostomum equinum* richtete sich die Schnittdicke nach der Größe der im Darm enthaltenen Concretionen.

Gefärbt wurde vorwiegend mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN. Zu Nachfärbungen benutzte ich Säurefuchsin, Saffranin, Saffranin-Lichtgrün oder Eosin-Lichtgrün. Bei der letzteren Farbenzusammenstellung ist es schwierig, das richtige Verhältnis zwischen grün und rot zu treffen. Nach GUIEYSSEs Angabe (1906/07) ließ ich die Schnitte zuerst 24 Stunden in ziemlich konzentriertem Eosin, dann nahm ich die Eisenhämatoxylinfärbung vor und brachte die Schnitte erst aus 70%igem Alkohol für 2—3 Min. in eine alkoholische Lichtgrünlösung. Recht gute Resultate erzielte ich auch mit der MALLORYschen Bindegewebsfärbung. Außer den genannten Färbemethoden wandte ich noch verschiedene andre an, jedoch mit weniger gutem Erfolg. — Zum Nachweis des Glykogens bediente ich mich hauptsächlich des Kalicarmins, wie es BEST 1906 vorschrieb. Vorgefärbt wurde mit Hämalaun. Natürlich wurde zur Kontrolle auch mit Kalicarmin allein gefärbt, ferner immer wieder die Jod- und die Speichelprobe gemacht, insbesondere in zweifelhaften Fällen.

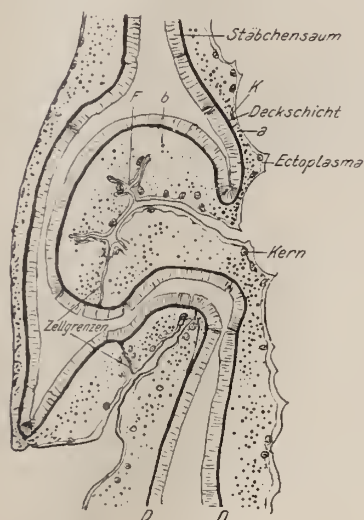
Das Darmepithel von Sclerostomum equinum.

In einem Totalpräparat von *Sclerostomum equinum* erscheint der Darm als ein dunkler Strang, der mehr oder weniger von den übrigen Organen des Tieres überlagert und eingeengt wird. Die deutlichen Zellgrenzen ergeben, daß der Darm nur aus zwei Zellreihen besteht. Die Zellen der beiden Reihen alternieren und greifen so zwischen einander, daß ihre Grenzen die für gewisse primitivere Nematoden charakteristischen beiden Zickzacklinien bilden. Am Anfang des Mitteldarmes sind die Zellen kurz, die Zickzacklinien daher besonders deutlich. Weiter nach der Körpermitte zu werden die Zellen immer länger, die Zellgrenzen oft verschwommener. Gegen das Darmende wird die Zickzacklinie fast zu einer Geraden. Diese Verhältnisse lassen sich noch besser bei *Sclerostomum quadridentatum* verfolgen. — Man sieht bei den *Sclerostomum*-Arten die Zellgrenzen deshalb so gut, weil die Zellen von einer Unzahl bei durchfallendem Licht schwarzer oder schwarzumrandeter Körperchen erfüllt sind, welche dem Darm ein pigmentiertes Aussehen verleihen, jedoch mit Pigment nichts zu tun haben, wie sich später zeigen wird. Sie legen sich in dichten Schichten an die Zellwände an und umsäumen so jederseits das helle Band, das durch die zusammenstoßenden Zellwände

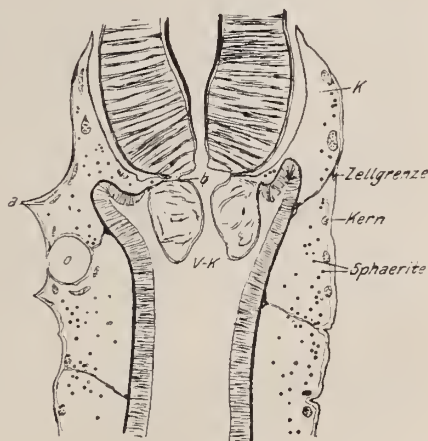
hervorgerufen wird. Häufig, besonders bei *Scler. quadridentatum*, sind die dunklen Körperchen so groß und zahlreich, daß die Zellen ganz von ihnen erfüllt zu sein scheinen. Bei *Scler. equinum* sind die Körnchen oft zu netzartigen Figuren gruppiert, oder auch in Klumpen vereinigt. Mitunter begegnet man auch Exemplaren, die keine oder fast keine Körnchen enthalten. Ihr Darm erscheint schon bei Betrachtung mit bloßem Auge hell.

Textfig. A zeigt einen Längsschnitt durch die vordere Hälfte des Darmes von *Scler. equinum.* Man bemerkt hier, daß der Darm, und be-

Textfig. A.



Textfig. B.



sonders sein Lumen, einen recht geschlängelten Verlauf haben kann, obgleich seine äußere Form auf den Totalpräparaten den Eindruck eines nahezu gestreckten Rohres macht. Er schmiegt sich insbesondere den Geschlechtsorganen an, die den wenig widerstandsfähigen Darm stark deformieren können. Daher kommt es, daß die Darmzellen auf Schnitten sehr verschieden hoch erscheinen. Auf Textfig. A beträgt die Höhe der Zelle bei *a* 36 μ, bei *b* 120 μ (den Stäbchensaum mitgerechnet). Der kreisförmige Ausschnitt *o* auf Textfig. B rührt von einer sich in den Darm eindrängenden Ovarialschlinge her. — Der Darm wird außen von einer dünnen Basalmembran begrenzt. Gegen das Lumen zeigt er den für das Darmepithel der Nematoden charakteristischen sogenannten Stäbchensaum (Textfig. A), der hier ganz besonders hoch ist. Jede Zelle

enthält eine größere Anzahl basal gelegener Kerne. Diese Beschaffenheit des Darmepithels findet sich in der ganzen Länge des Darmes. Textfig. B gibt ein Bild der Übergangsstelle des Oesophagus in den Mitteldarm. Vom Oesophagus ausgehend, ragt ein etwa 100 μ langer, 70 μ dicker Kragen (*vk*) in das Darmlumen hinein. Auf Querschnitten wie an Totalpräparaten sieht man, daß dieser Kragen drei breite abgerundete Zipfel besitzt. Er dient jedenfalls als Klappenventil zum Verschluß des Oesophagus. Dort, wo dieser in die Ventilklappen übergeht, setzt sich das Mitteldarmepithel mit seinem mächtig ausgebildeten Stäbchensaum (Textfig. B, *b*) an. Zunächst erhebt sich der Mitteldarm etwas nach vorn, um das Hinterende des Oesophagus zu umscheiden und biegt dann in scharfem Knick nach hinten um.

Das Zellplasma. Das Protoplasma der Zellen (Taf. I, Fig. 1 bis 3, Textfig. A) läßt zwei Regionen unterscheiden. Den Hauptteil der Zelle bildet ein lockeres Plasma (Entoplasma), das zu fibrillärer Bildung neigt. An der Zellbasis liegt eine dünne, engwabige Plasmaschicht (Ectoplasma) die sich zuweilen auch färberisch von dem Hauptplasma unterscheidet.

Das Entoplasma (wie wir es nennen wollen) erscheint recht verschieden, je nachdem es Einlagerungen von Nahrungs- oder Secretmassen enthält oder nicht. Ist es frei von solchen, so bietet es (besonders nach Konservierung mit Flemmings Gemisch) auffallend schönen Wabenbau dar (Taf. I, Fig. 1, 3, 4). An Stellen (wie Textfig. B, *o*), wo das Darmrohr durch die Geschlechtsorgane deformiert und das Plasma daher quer zum Darm zusammengepreßt wurde, oder an Stellen (Textfig. A, *b*), wo es einen Zug in entgegengesetzter Richtung erlitten hat, tritt fibrilläre Umbildung der Struktur auf. Es ist interessant, den allmählichen Übergang vom ungezerrten zum gezerrten, vom wabigen zum fibrillären Plasma zu verfolgen. Die Fibrillen entstehen immer in der Richtung des Zuges, bzw. senkrecht zur Richtung des Druckes. Fig. 3, Taf. I zeigt ein Plasma, dessen Wabenanordnung nahezu ungestört dem Gesetz der Oberflächenspannung folgen konnte, Fig. 2 dagegen gibt eine Stelle wieder, an der offenbar ein sehr gleichmäßiger Zug geherrscht hat, denn das Protoplasma ist auffallend gleichmäßig gefasert. Die Waben liegen in Reihen senkrecht zur basalen Plasmaschicht. Je zwei nebeneinanderliegende Wabenzüge bilden zwischen sich eine anscheinende Fibrille. Die Ansatzstellen letzterer an das basale Ectoplasma sind deutlich zu erkennen, denn das Ectoplasma wurde von den Fibrillen zu zapfenähnlichen Erhebungen emporgezogen. Nicht immer ist die Ausbildung der Fibrillen so gleichmäßig. Es wechseln häufig mit einer Anzahl zarterer vereinzelte

kräftigere Fibrillen ab, deren Ansatzstelle an das Ectoplasma durch besonders große Zapfenbildung auffällt. An nicht zu dünnen Schnitten kann man zuweilen eine Fibrille vom Ectoplasma bis zum Stäbchensaum verfolgen. Während die zarten Fibrillen ganz blaß gefärbt sind, so daß sie zuweilen nur bei Abdämpfung des Lichtes und mit Ocular 18 sichtbar werden, färben sich die dickeren nicht nur mit Lichtgrün stärker, sondern zeigen auch körnige Einlagerungen, die von Eisenhämatoxylin geschwärzt sind. Besonders interessant sind Stellen, an denen das Plasma nach verschiedenen Richtungen gezerrt worden ist. An solchen treten nämlich gekreuzte Fibrillensysteme auf. Es sind dann die Fibrillen in dem offenbar sehr zähflüssigen Plasma in der einen Richtung noch teilweise erhalten, während durch veränderte Zugrichtung neue Fibrillen entstanden sind. Vielleicht sind durch solche wechselnden Zugwirkungen auch die interessanten Bilder hervorgerufen, wie sie Fig. 1, Taf. I, bei stärkster Vergrößerung möglichst genau wiedergibt. Die Färbung des vorliegenden Präparates ist Eosin-Eisenhämatoxylin-Lichtgrün, wobei das Plasma eine klare lichtgrüne Färbung angenommen hat, die wesentlich dazu beiträgt, die Feinheiten seines Baues erkennen zu lassen. Wir haben hier das Bild eines gröberen Wabenwerks, dessen Maschen schon bei schwacher Vergrößerung hervortreten. Bei Anwendung stärkster Objektive und günstiger Beleuchtung sieht man aber, daß diese groben Waben erster Ordnung erfüllt sind von einem feinsten Wabenwerk zweiter Ordnung, das bei weniger guter Fixierung leicht zerstört wird und dann nur noch in Trümmern als Fäserchen und Körnchen den widerstandsfähigeren Plasmabildungen anhaftet. — Zuweilen ist das Protoplasma von der Basalmembran bis zum Stäbchensaum faserig ausgebildet. Aber meist zeigt es unterhalb des Stäbchensaumes keine ausgesprochene Faserung mehr. Die Alveolen werden dicht unter dem Stäbchensaum zuweilen so klein, daß sie nicht mehr deutlich als solche zu erkennen sind, weshalb sich nur wegen ihres allmählichen Feinerwerdens nach innen auch für diese Region schließen läßt, daß sie aus feinstalveolärem Plasma besteht.

Ähnlich feine Alveolen zeigt auch das basale Ectoplasma, welches eine mehr oder weniger dünne Lage bildet, die sich häufig stärker färbt als das Entoplasma, was wohl nur auf größerer Dichte beruht. Auf einer Schnittserie (vgl. Taf. I, Fig. 2) bestand dies Ectoplasma aus zwei Lagen (*a* u. *b*), die sich ihrer Struktur und Farbe nach durch nichts unterschieden. Sie waren jedoch durch einen zarten Saum getrennt. — Auch im Ectoplasma kommen zuweilen Fibrillenbildungen vor. Z. B. an Stellen, wie Textfig. B, *a*, wo die Basalmembran eine scharfe Ecke

macht und dadurch ein Zug auf das Plasma ausgeübt wird, dessen Richtung den Winkel der Ecke halbiert, sieht man in der Richtung des Zuges die fibrilläre Bildung zuweilen recht deutlich. Endlich erleidet das Ectoplasma noch Deformierungen durch die Kerne.

Die Kerne. Im Entoplasma jeder Zelle liegen, wie gesagt, mehrere Kerne. Meistens sind sie dem Ectoplasma sehr genähert, ja in Grübchen desselben eingebettet (Taf. I, Fig. 1 bei *n*). Ihr Abstand voneinander ist sehr verschieden, im Durchschnitt etwa 70 μ. Dort, wo die Basalmembran (*Bm*) sich nach innen einfaltet, liegen die Kerne meist dichter zusammen bis zu unmittelbarer Berührung.

Bei den verschiedenen Individuen wechselt der Bau der Kerne auffallend. Ich möchte annehmen, daß die ursprüngliche Kerngestalt eine kugelige von etwa 12 μ Durchmesser ist. Fig. 7 *a*, Taf. I, zeigt einen solchen Kern mit relativ kräftiger Membran. Meist aber ist letztere so zart, daß sie durch Zerrungen des Plasmas leicht deformiert wird. Fig. 4, Taf. I, ist einer Stelle entnommen wie Textfig. A bei *k*, wo das Plasma durch eine Gonade stark zusammengepreßt ist. Hier sind die schön ausgebildeten Waben, welche ich einzeln mit Hilfe des Zeichenapparates bei Anwendung von Ocular 18 nachzeichnen konnte, senkrecht zur Druckrichtung gestreckt. Dieselbe Deformierung hat auch der Kern (*n*) erlitten. In Fig. 1, Taf. I, ist der Kern (*n*) ein wenig seitlich zusammengedrückt und seine ellipsoide Gestalt noch dadurch gestört, daß die gröberen Netzzüge Gruben in den Kern eingedrückt haben.

Auf dieser Figur erscheint der Kern als heller Fleck im dunkleren Plasma. Das kommt daher, daß das Kerngerüst arm ist an Chromatineinlagerungen. Die Chromatinkörnchen sind zu Gruppen vereinigt. Bald sind sie locker zusammengeschart (Fig. 7 *a*, Taf. I), bald zu dichteren Klumpen zusammengeballt (Fig. 4, Taf. I), aber nie zu einem einheitlichen Körper verschmolzen. Solcher Anhäufungen kommen 1—3, oft auch mehr bis zu 6 in einem Kern vor. Niemals bemerkt man jedoch echte Nucleolen, welche bei andern Nematoden die Regel sind. Das Kerngerüst, das in den bisher betrachteten Figuren alveolär erschien, kann auch netzig-faserig werden (vgl. Fig. 7 *b*, Taf. I, wo es auffallend gerade verlaufende Fasern besitzt, deren optische Durchschnitte als dunkle Pünktchen erscheinen). Diese Fasern, namentlich die gerade verlaufenden, können recht kräftig und breit, häufig bandförmig werden (Fig. 7 *c*, Taf. I). Sie scheinen dadurch entstanden zu sein, daß eine Anzahl Netzfasern sich vereinigt haben. Während in Fig. 7 *c* noch mehrere solche Bälkchen regellos durcheinander liegen, zieht in Fig. 7 *d* ein einziger

kräftiger Balken quer durch den ganzen Kern. Gleichzeitig erscheinen die feineren Elemente des Kerngerüstes zerrissen und neigen dazu, sich der Kernwand anzulegen. Dieser Zustand führt zu einer Kernform, die ich bei einigen — übrigens gut konservierten — Exemplaren ausschließlich fand. Die typischen Kerndurchschnitte, die sich hier immer wiederholten, zeigt Fig. 6 *a—d*. Aus diesen Kernbildern läßt sich leicht eine körperliche Vorstellung von der Gestalt des Kernes gewinnen: Fig. 5 zeigt das Bild eines Modells, das ich nach diesen Schnitten aus Plastolin konstruierte. (Die vordere Kugelkalotte ist weggenommen, um das Innere sichtbar zu machen.) Das Kerngerüst mit seinem chromatischen Inhalt ist dicht an die Peripherie gedrängt. Ein kräftiger Balken durchsetzt und stützt den hohlen Kern, der stets regelmäßig kugelig erscheint.

Endlich finden sich noch Kernformen, die ich anfangs für Lochkerne hielt. Sie geben die in Fig. 8 *a—d* dargestellten Bilder. In diesen Kernen ist das Gerüst gleichfalls an die Peripherie gedrängt, und durch den gleichmäßigen inneren Druck die Kugelgestalt der Kerne schön erhalten. Ein die Kernvacuole durchsetzender Balken fehlt. Der plasmatische Kerninhalt ist nicht so stark zusammengepreßt wie bei der vorigen Kernform, und enthält eine Anzahl Chromatinbröckchen, die, wie bei den erstgeschilderten Kernen auch hier die Neigung haben, sich zusammenzuscharen. Daß wir es hier nicht mit Lochkernen zu tun haben, geht zweifellos daraus hervor, daß unter den vielen Schnitten niemals ein solcher sich fand, der den Kern in zwei Hälften zerlegt zeigte. Auch sieht man zuweilen, daß das Kerngerüst nicht gänzlich aus der Mitte verdrängt ist (Fig. 3), sondern blasse Fädchen die Vacuole noch durchsetzen. Eine Färbung des Vacuoleninhaltes oder Fällungserscheinungen habe ich nirgends beobachtet.

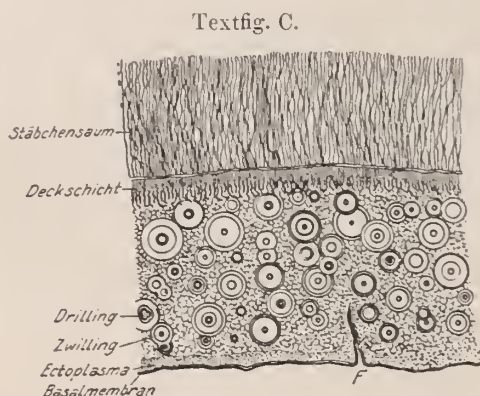
Eine Mitose habe ich nicht gefunden; jedoch auch nie eine deutliche Amitose. Da aber amitotische Teilungen bei Nematoden nicht selten sind, wie wir bei der Besprechung der *Ascaris*-Darmzellen noch sehen werden (vgl. auch Rauther 1909), und da ferner für ganz ähnlich gebaute Nematodendärme (z. B. *Ancylostoma*) in jeder der zwei Zellen eines Darmquerschnittes viele amitotisch entstandene Kerne beschrieben sind (Looss 1905), so habe ich wohl Grund, anzunehmen, daß auch die Kerne bei *Sclerostomum* amitotisch entstanden sind.

Über die Anzahl der Kerne in einer Zelle gibt folgende Berechnung Aufschluß: Auf Quer- und Längsschnitten durch den Darm sieht man, daß die Kerne in ziemlich gleichmäßigen Abständen an der Basis der Zelle verteilt sind. Auf einem Querschnitt, auf dem in der Regel zwei Zellen getroffen werden, zählt man in je einer der beiden Zellen etwa

30 Kerne. Nimmt man nun die Länge der Zelle gleich $1/4$ Darmumfang an, was etwa für den mittleren Teil des Darmes zutreffen würde, so kämen im Darmlängsschnitt etwa 15 Kerne auf eine Zelle. Daraus ergibt sich, daß in einer Zelle 15 × 30, also nahezu 500 Kerne verteilt sind.

Einschlüsse im Zellplasma. Unter den Einschlüssen des Plasmas fallen besonders jene schon früher erwähnten stark lichtbrechenden Kügelchen auf, welche dem Darm das dunkle Aussehen verleihen. Sie sind häufig netzartig gruppiert, wenn sie nicht zu zahlreich sind, daß sie den Darm total schwärzen. Sie liegen nur im Entoplasma und vorwiegend in der Nähe des Darmlumens. Nach außen werden sie spärlicher, doch findet man gerade hier häufig die größten.

Textfig. C.



Textfig. C zeigt, wie dicht sie sich zusammendrängen können. Auf Durchschnitten erscheinen sie als hellgelbe, stark lichtbrechende Kügelchen von konzentrisch geschichtetem Bau. Sie können auch bräunlich erscheinen, sind dann aber meist schwächer lichtbrechend. Daß es sich um konzentrische Schichtung und nicht etwa um Beugungsringe handelt, ist bei den größeren Kugeln, die einen Durchmesser von bis zu 7 μ erreichen, ganz deutlich. Man sieht dann konzentrische Ringe im Innern, auch wenn wegen geringeren Lichtbrechungsvermögens außen keine Beugungsringe auftreten. Ferner erkennt man die Ringe im Innern auch bei schärfster Einstellung (vgl. Bütschli 1893). Fig. 4, Taf. I, zeigt eine stark lichtbrechende Kugel (*Sk*) von reicher konzentrischer Schichtung, Fig. 16 *a*, Taf. III, dagegen eine mit matterem Glanze. Beide zeigen bei tiefer Einstellung des Tubus im Centrum einen hellen Fleck mit dunkler Umrandung, sind also wahrscheinlich hohl (vgl. Bütschli 1894 u. 1898). Die Schicht, die dieses Centrum umgibt, zeigt zuweilen eine radiäre Struktur, welche diese Kugelschale als aus Körnchen oder Alveolen zusammengesetzt erscheinen läßt (Fig. 17 *c*, Taf. III). In den äußeren Kugelschalen wurde unter normalen Verhältnissen niemals eine radiäre Struktur beobachtet, wohl aber, wenn die Körper Auflösungserscheinungen zeigten (Fig. 17 *d*). Hier wird es dann auch

wahrscheinlich, daß es sich bei der radiären Struktur um Körnchen und nicht um Alveolen handelte: Bei Einwirkung von heißer starker Salpeter- oder Schwefelsäure zerfielen die Kugeln in lauter kleine Körperchen (Globuliten?), ehe sie ganz aufgelöst wurden.

Nach der bisherigen Beschreibung kann es keinem Zweifel unterliegen, daß wir es mit Sphärokristallen zu tun haben. Das zeigen auch die häufigen Zwillings- und Drillingsbildungen (vgl. Taf. III, Fig. 16*b* u. *c*). Die größten Sphären ließen sich sogar zwischen gekreuzten Nicols als positiv doppelbrechend erkennen (d. h. sie verhielten sich wie Amylumkörner).

Meist waren die Koncretionen nicht tingierbar. Nur in einem Präparat, das mit Säurefuchsin überfärbt war, zeigte sich eine teilweise Färbung der Sphären, die interessanten Aufschluß über ihren Bau gab. Die äußere Kugelschale war stets ungefärbt und stark lichtbrechend. Ins Innere aber war das Säurefuchsin eingedrungen und hatte dort die innerste Kugelschale tief rot gefärbt, so daß das helle Centrum kaum noch durchschimmerte (Fig. 17 *a* u. *b*). Dieser rote Kern lag exzentrisch in dem Innern der hellgelben Kugelschale, ein Zeichen, daß hier kein normaler Zustand vorlag; sei es nun, daß die eindringende saure Farbe die Sphäre verändert hatte, sei es, daß das Eindringen der Farbe schon die Folge einer Veränderung war. Die Innenseite der äußeren Schale zeigt einen dünnen dunkelroten Belag. Dieser Belag kann stellenweise abgelöst sein (Fig. 17 *b*) und gibt dadurch zu erkennen, daß er kein starres Gebilde ist. Die hellgelbe äußere Schale ist im allgemeinen starr und zerbricht bei mechanischem Druck (vgl. auch Fig. 17 *c*, wo ein Teil der Schale herausgebrochen ist). Doch ist sie an andern Stellen auch dehnbar (Fig. 17 *d* u. *e*) und läßt sich durch Druck deformieren. In Fig. 17 *e* ist die Schale stark deformiert, der feste Kern aber zerbrochen. Doch sind diese Verhältnisse Ausnahmen. In der Regel ist die ganze Kugel starr und massiv: wenn man durch festen Druck auf das Deckglas das Gebilde zerbricht, so spaltet es sich in drei, vier oder mehr Kugelsektoren.

Bei der Untersuchung der chemischen Natur der Sphären hat mich Herr Geheimrat Bütschli mit Rat und Tat auf das liebenswürdigste unterstützt, wofür ich ihm meinen herzlichsten Dank ausspreche.

Zunächst versuchte ich, die Kristalle zu lösen, und zwar in Säuren oder Basen. In Basen lösen sie sich garnicht. In Säuren nur sehr schwer. Ich versuchte die Auflösung mit Salz-, Schwefel- und Salpetersäure in steigenden Konzentrationen und bemerkte innerhalb einer halben Stunde keine Lösungserscheinungen. Erst bei Erwärmung zeigte sich — namentlich in Salpetersäure — beginnender Zerfall in kleine und kleinste Körn-

chen. Beim Kochen in konzentrierter Salpetersäure lösten sie sich schließlich völlig auf.

Zur Entscheidung, ob es sich um eine organische oder anorganische Substanz handelt, wurden die Kristalle längere Zeit auf einem Glimmerblättchen über der Bunsenflamme geglüht, wobei sie erhalten blieben, sich also als anorganisch erwiesen. Ich isolierte dann eine relativ große Menge Kristalle, indem eine Anzahl besonders dunkler Sclerostomen in Kalilauge aufgelöst wurden, wobei nach einigem Kochen außer den äußeren Eischalen nur die Kristalle ungelöst blieben. Diese wurden zentrifugiert und eine Probe auf dem Wasserbad in Salpetersäure gelöst.

Wegen der geringen Löslichkeit lag es nahe, auf Schwefel- oder Phosphorsäure zu prüfen. Es wurde zu einem Tropfen der gelösten Substanz ein Tropfen Ammoniummolybdatlösung in Salpetersäure zugesetzt. Doch entstand kein Niederschlag, weder beim Erwärmen noch nach einigem Stehen. Dagegen zeigte sich bei Zusatz von Baryumchlorid sogleich ein schon mit bloßem Auge sichtbarer Niederschlag, der sich unter dem Mikroskop als aus kleinen kugeligen und ellipsoiden Körnchen bestehend darstellte, die sich, wie zu erwarten, in Salzsäure nicht lösten. Wir haben es also mit einem schwefelsauren Salz zu tun.

Es lag daher nahe, als Basis ein Erdalkalimetall zu vermuten. Daher versuchte ich eine Flammenreaktion, die auffallend deutlich die rote Färbung der Calciumdämpfe zeigte. Ich wiederholte die Reaktion nochmals mit einem Spektralapparat, wobei sich wieder von den hier in Betracht kommenden Spektrallinien nur die des Calciums zeigten. Die Anwesenheit des Calciums wurde außerdem noch durch Ammoniumoxalat nachgewiesen, das einem durch Ammoniak alkalisch gemachten Tropfen der Lösung zugesetzt wurde. Ich erhielt dabei »Kristalle von oktaedrischem Habitus«, etwa 12 μ groß, also die Calciumoxalatkristalle, wie sie Behrens (1899) beschreibt.

Die Sphärite müssen also nach diesen Ergebnissen im wesentlichen aus $CaSO_4$ bestehen. Auffallend ist jedoch die schwere Löslichkeit in Säuren, und die scheinbare Unlöslichkeit in Wasser, da sich Gips doch im Verhältnis 1 : 480 in Wasser löst. Die Unlöslichkeit in Wasser erwies sich allerdings nur als eine scheinbare, denn wenn die Kristalle einige Tage in Wasser gestanden hatten, so erhielt ich nach Hinzufügung von $BaCl_2$ den vorher beschriebenen Niederschlag von $BaSO_4$. — Immerhin ist die Löslichkeit der Kristalle auffallend gering und es ist möglich, daß noch Spuren andrer Bestandteile darin vorkommen.

Ich wiederholte hierauf nochmals die Lösung, diesmal im Platintiegel, um die eventuelle Lösung von Calcium aus den Glasgefäßen zu

umgehen. Auch löste ich die Würmer in 1%iger Kalilauge auf. — Bei der Gelegenheit setzte ich einem Teil der ausgewaschenen und getrockneten Substanz etwas Salzsäure zu und beobachtete geringe Kohlensäureentwicklung. Doch erwies sich, daß diese jedenfalls nicht aus den ursprünglichen Kristallen selbst stammte, sondern wohl dadurch entstanden war, daß sich in der Kalilauge etwas K_2CO_3 gebildet hatte, das eine geringe Menge des Gipses in $CaCO_3$ verwandelt hatte. Ein Kontrollversuch, den ich auf Anraten Herrn Geheimrat Bütschlis mit Gips machte, (Gips wurde gekocht in 1%iger Kalilauge, gründlich ausgewaschen, bis die alkalische Reaktion verschwand, getrocknet und Salzsäure zugesetzt) ergab auch jetzt eine lebhafte CO_2-Entwicklung. — Im übrigen zeigte die im Platintiegel hergestellte Lösung genau die früher gefundenen Reaktionen, nur daß nicht so reichlich Calcium nachgewiesen werden konnte, ein Zeichen, daß wohl in der Tat etwas Calcium von außen in die Lösung gekommen war.

Was die übrigen Plasmaeinschlüsse betrifft, so sind sie bei den verschiedenen Individuen sehr verschieden, meist aber granulärer Natur. Ich habe Präparate, in denen die Einlagerungen ganz fehlen, es sind das diejenigen, welche die Plasmastruktur besonders schön zeigen. Häufig wird aber die Plasmastruktur durch die Granula beinahe ganz verdeckt. Nun hat Busch (1905/06) im Darm von *Scler. equinum* »une quantité notable de fins granules« als Glykogen nachgewiesen. Zu meiner Verwunderung erwiesen sich aber die meisten dieser Granula nicht als Glykogen. Nur ganz vereinzelt traf ich einen Darm, der Glykogen enthielt. Fig. 13, Taf. III, zeigt einen Schnitt durch einen solchen. Die kleinen Glykogenkügelchen (*Gl*) erfüllen fast das ganze Entoplasma. Nur die Partie dicht unter dem Stäbchensaum ist frei von Glykogen und vom glykogenhaltigen Teil durch eine Schicht dicht zusammengedrängter Sphären getrennt. Im Ectoplasma fand ich niemals Glykogen. Auch der Stäbchensaum ist davon frei, wenn er sich auch mit Kalicarmin schwach rötet (Fig. 13); denn mit Jod wird er hellgelb.

Über die Natur andrer granulärer Plasmaeinlagerungen und eigentümlicher bläschenartiger Bildungen vermag ich nichts Bestimmtes zu sagen. Ob es sich um Secrete oder um eiweißartige Nahrungsstoffe, oder um noch andres handelt, ließe sich erst durch physiologische Experimente entscheiden, auf die ich verzichten mußte. Ich kann mich daher nur rein descriptiv verhalten. Außer den in einzelnen Tieren sehr zahlreich auftretenden Granula von geringerem Lichtbrechungvermögen als Kanadabalsam, die sich garnicht oder ganz blaß mit Plasmafarben tingieren, findet man ziemlich in jedem Darm dunkle Bröckchen (*gr*), die

sich mit Eisenhämatoxylin schwärzen und zerstreut im Ento- und Ectoplasma vorkommen (vgl. Fig. 1 und 3, Taf. I). Ihre Eigenfarbe ist braun, wie z. B. bei Färbung mit Eosin-Lichtgrün schön zu sehen ist. Sie sind etwas stärker lichtbrechend als das umgebende Medium. Meist sind die kleinen Bröckchen oder Kügelchen zu mehreren zusammengeballt. Im Ectoplasma finden sie sich zuweilen so zahlreich, daß es ganz davon angefüllt ist. — Hier kommen auch kleine stärker lichtbrechende Kügelchen vor, die beim Drehen der Mikrometerschraube hellgelb aufblitzen. Ich konnte keinen Anhaltspunkt dafür finden, ob sie etwa den Sphärokristallen verwandt sind und genetisch mit ihnen zusammenhängen.

Basalmembran, Stäbchensaum und Zellgrenzen. Nach außen wird das Darmepithel von einer Basalmembran begrenzt, die im Gegensatz zu der andrer Nematoden sehr dünn ist. Irgend etwas von Struktur war an ihr meist nicht zu finden. Doch zeigen einzelne Stellen, daß sie einen Schichtenbau besitzt, da sie sich in feinen Lamellen vom Darm ablösen kann. Sie hat Neigung zu stärkerer Flächenausdehnung, als es dem Umfang des Darmes entspricht; infolgedessen zeigt sie sich oft gewellt, oder faltet sich, wie schon erwähnt, mehr oder weniger tief ein, wobei das basale Plasma ihr folgt (vgl. Fig. 1 bei *F* und Textfig. C bei *F*). Solche Einfaltungen können sich sogar verzweigen (vgl. Textfig. A bei *F*). Diese Einfaltungen der Basalmembran sind besonders häufig auf den Zellgrenzen, wo sie so tief werden, daß die benachbarten Zellen nur auf kurze Strecken zusammenstoßen.

Nach dem Darmlumen zu findet sich ein außergewöhnlich hoher und mannigfach ausgebildeter Stäbchensaum, der geeignet ist, allerlei Aufschlüsse über den feineren Bau dieses bei fast allen Nematoden vorkommenden Gebildes zu geben. Zunächst fällt eine kräftige, stark färbbare. sogenannte Deckschicht als Trennungsschicht zwischen Zellplasma und Stäbchensaum auf (Textfig. A u. B). Sie färbt sich besonders stark mit Eisenhämatoxylin und — bei Mallory-Färbung — mit Säurefuchsin. Die etwa 4—5 μ dicke Schicht zeigt drei Lagen, die im allgemeinen gleich dick sind (Textfig. C und Fig. 10 u. 11, Taf. I).

Direkt unter dem Stäbchensaum findet sich eine fein strukturierte, regelmäßig gebaute Lage (Fig. 11, *1*, Taf. I), die auf Querschnitten durch den Darm aus feinen parallelen Stäbchen aufgebaut erscheint, die so scharf gegeneinander abgegrenzt sind, daß man sie eine Strecke weit zählen kann und dadurch in der Lage ist, ihren Abstand voneinander zu berechnen. Auf je 0,3—0,6 μ (je nach den verschiedenen Individuen) kommt ein Stäbchen. Genau denselben Bau zeigt die darunter befindliche

Lage, nur daß hier die Stäbchen dicker sind und einen zwei- bis dreimal so großen Abstand voneinander haben; auch sind sie etwas geschlängelt.

Auf Flächenschnitten durch den Darm ergibt sich, daß wir es nicht mit Stäbchen, sondern mit einem deutlichen Alveolenwerk zu tun haben, dessen stark mit Eisenhämatoxylin gefärbte Kanten so scharf hervortreten, daß man die einzelnen Waben mit Hilfe des Zeichenapparates nachziehen kann. Das ist z. B. auf Fig. 9 wenigstens für die zweite Lage geschehen.

Die dritte Lage ist ein mehr oder weniger kräftiges Faserwerk (Fig. 10 u. 11, bei 3), das wie ein Wurzelgeflecht erscheint, namentlich auf dem Flächenschnitt durch die Deckschicht (Fig. 9). Die dickeren Fasern dieses Geflechtes sind aus feineren zusammengesetzt und sie dienen jedenfalls dazu, den Stäbchensaum in dem Zellplasma zu verankern.

Auch färberisch zeigen die verschiedenen Lagen Unterschiede, indem z. B. bei Tinktion mit Eisenhämatoxylin-Eosin-Lichtgrün die obere feinere Schicht das Eosin weniger annimmt als die beiden andern.

Übrigens habe ich die Deckschicht auch einfacher gebaut gefunden, nämlich so, daß nur die mittlere Schicht ausgebildet, oder das Wurzelgeflecht kaum zu bemerken war. — Jedoch zeigt die Deckschicht im allgemeinen einen recht übereinstimmenden Bau, im Gegensatz zum Stäbchensaum, der eine sehr mannigfache Ausbildung darbietet.

Der Stäbchensaum (*St*) wird von der Deckschicht abgegrenzt durch eine feine Alveolarschicht, die außerordentlich kleine und schwer sichtbare Alveolen besitzt (Fig. 11, bei *as*). Diese zerreißen leicht bei der Konservierung, weshalb sich der Stäbchensaum auf Schnitten häufig von der Deckschicht ablöst. Der Stäbchensaum besteht durchaus nicht immer aus einer einheitlichen »Stäbchenschicht« (Fig. 13, Taf. III), sondern zeigt meist zwei (Fig. 11, Taf. I) oder sogar drei (Fig. 12, Taf. I) und mehr Stockwerke übereinander. Häufig sind die Elemente des Stäbchensaumes so fein, daß man nur mit Mühe — oder überhaupt nicht — eine Längsstreifung erkennen kann. Da die Schnitte fast nie ganz genau den Stäbchen parallel sind, so sieht man dann (bei stärksten Vergrößerungen) meist nur eine ganz feine Körnelung, die von den Durchschnitten der Stäbchen herrührt. Will man über die Struktur des Stäbchensaumes Genaueres erfahren, so muß man gröber gebaute Säume untersuchen. Fig. 10, Taf. I, zeigt einen noch relativ feinen Stäbchensaum, der an einer Stelle gespalten ist. An dieser sieht man, daß die »Stäbchen« feine bis feinste Fasern sind, deren immer neue sichtbar werden, wenn man die Vergrößerung weiter steigert und die Irisblende ein wenig verengert. Wichtigen Aufschluß über die Struktur

des Saumes geben Schnitte quer zu den Fasern. Fig. 13, Taf. I, zeigt eine kleine Partie aus einem Flächenschnitt durch einen relativ locker gebauten Stäbchensaum. Gefärbt war der Schnitt nach MALLORY, wobei das Anilinblau ein besonders scharfes Bild des Stäbchensaumes gibt, schärfer noch als Lichtgrün, das ich auch verschiedentlich mit Erfolg anwandte. Man bemerkt hier, daß die Stäbchen keine isolierten Gebilde sind, wie etwa die Geißeln der Flimmersäume, sondern daß sie durch zarte Lamellen, also auf dem Querschnitt durch feine Brücken miteinander verbunden sind. Diese Lamellen sind sehr zart und zerreißen daher beim Konservieren leicht, wie auch die Fig. 13 zeigt. Sie sind als Wände langgestreckter Reihen von Alveolen anzusehen. Am günstigsten für die Untersuchung war ein sehr lockerer Stäbchensaum, von dem Fig. 12, Taf. I, ein Stück aus einem besonders dünnen Längsschnitt möglichst getreu wiedergibt. Der Saum besteht aus drei übereinander liegenden Lagen, die durch je eine querlaufende Lamelle voneinander getrennt sind. Die mit den Stäbchen parallel laufenden Lamellen sind auch hier (wie in Fig. 13, Taf. I) zum großen Teil zerrissen. Das was je als eine kräftige Faser oder Stäbchen (*b*) erscheint, sind meiner Ansicht nach zwei oder mehr feine Fasern, die durch noch erhaltene Alveolenwände verbunden sind. Die dunkleren Randlinien (Fig. 12 *s*) sind die Fasern (sogenannte Stäbchen), das von ihnen begrenzte helle Band die sie verbindenden Wabenwände. In den Lücken sieht man verstreut (z. B. bei *a*) Bruchstücke gänzlich isolierter Fasern. — So allein läßt sich der Längsschnitt verstehen, wenn man ihn mit dem Querschnitt (Fig. 13) vergleicht.

Eine eigentümliche Ausbildung des Stäbchensaumes kann ich nicht übergehen. Sie ist auf Fig. 11, Taf. I, dargestellt. Hier erscheint das oberste Stockwerk des Stäbchensaumes eigenartig zerfetzt. Die einzelnen Fasern sind wie durch Wirbelströme gekrümmt und auseinandergerissen. Dennoch ist der Abschluß des ganzen Stäbchensaumes gegen das Darmlumen ein zusammenhängender, da die Fetzen des Stockwerkes durch zarte, heller gefärbte Alveolen untereinander verbunden sind. Diese haben keinen bestimmt gerichteten Zug erfahren.

Die einzelnen Stockwerke der Stäbchensäume sind keine dauerhaften Gebilde; sie lösen sich vielmehr leicht ab. Oft genug sieht man lange Streifen abgestoßener Stäbchenlagen im Darmlumen; auch der Vorgang der Ablösung ist auf den Schnitten oft zu verfolgen. Die Ablösung der inneren Lage scheint mit einem Secretionsvorgang zusammenzuhängen. Die dunkle körnige Masse in Fig. 10, Taf. I, *sec*, hat eine gelblich-braune Farbe, die nicht durch die Tinktion (Eosin-Eisenhämatoxylin-Lichtgrün) hervorgerufen ist, sondern sich auch auf ungefärbten

Schnitten zeigt. Diese Masse scheint aus den Wabenröhrchen des Stäbchensaumes herausgepreßt zu werden. Man kann nämlich verfolgen, wie diese gelbliche Masse im Stäbchensaum allmählich gegen seine Innenfläche emporrückt. Schließlich wird dann das herausgepreßte Secret als zusammenhängende Schicht ins Lumen abgestoßen. Häufig wird es aber samt der ganzen äußeren Lage des Stäbchensaumes von der Zelle abgelöst. Es kommt vor, daß mehrere solche Secretschichten gleichzeitig nacheinander in einem Stäbchensaum emporrücken, wobei jedesmal, wenn eine Secretlage abgestoßen wird, sich auch der von ihr durchsetzte Teil des Stäbchensaumes ablöst. Daraus folgt auch, daß der Stäbchensaum sich leicht regenerieren kann.

In einem Fall schein mir eine Excretionserscheinung vorzuliegen: Der Stäbchensaum war reichlich durchsetzt von sehr kleinen, stark lichtbrechenden gelben Kügelchen, die auch stellenweise über dem Stäbchensaum angehäuft waren. Damit in Zusammenhang stand offenbar das eigentümliche Aussehen der Sphärite im Plasma dieser Zellen (Fig. 17 *f*, Taf. III): Die Oberfläche der Kristalle war besetzt mit kleinen Körnchen oder Tröpfchen, welche denen des Stäbchensaumes sehr glichen.

Betrachten wir schließlich noch die Zellgrenzen, bzw. die Verbindung der Zellen untereinander. Eine kurze, von der Deckschicht vorspringende und färberisch zu ihr gehörende Lamelle (Taf. I, Fig. 3; Taf. III, Fig. 13 *L*) deutet die Stelle an, wo zwei Zellen aneinandergrenzen. In der vorderen Körperhälfte des Tieres sind die Grenzen recht deutlich, in der Regel zwei auf jedem Querschnitt, wie ja auch nach dem Totalpräparat zu erwarten war. An der Bildung der Grenze beteiligt sich das basale Ectoplasma, und zwar so, daß das Entoplasma zweier benachbarter Zellen durch das ihnen beiden gemeinsame Ectoplasma getrennt bzw. verbunden wird (vgl. Taf. I, Fig. 3 *Ecp*). Diese ectoplasmatische Zwischensubstanz kann auffallend breit werden.

Je weiter wir den Darm nach hinten verfolgen, um so undeutlicher werden die Zellgrenzen (Fig. 13, Taf. III). Die Deckschichtlamelle (*L*) wird immer kürzer, doch hilft sie häufig noch, die feine Schicht, welche zwei Zellen trennt, von den Plasmafasern zu unterscheiden, denen sie auf Querschnitten sehr ähnlich sieht. Auf Querschnitten durch den hinteren Darmabschnitt konnte ich häufig keine Zellgrenzen mehr finden. Vielleicht liegen hier Zellverschmelzungen vor.

Die Mitteldarmzellen bei Ascariden.

Nachdem wir uns eingehender mit den Darmzellen von *Sclerostomum equinum* beschäftigt haben, wage ich es, zu den zahlreichen Beschreibungen der Darmzellen der großen Ascariden (*Ascaris megalocephala* und

Ascaris lumbricoides) noch eine neue hinzuzufügen. Auch auf das Mitteldarmepithel von *Ascaris mystax* aus dem Hund und das von *Ascaris gibbosa* aus dem Huhn will ich ein wenig eingehen.

Eine allgemeine Übersicht über den hinlänglich bekannten Bau des Mitteldarms brauche ich nicht zu geben.

Ich will nur auf einen Punkt eingehen, über den Jägerskjöld in seinen Beiträgen zur Kenntnis der Nematoden spricht (1894). Er hat für einige kleinere Ascariden (*Asc. osculata. A. spiculigera, A. decipiens*), die nicht im Darm. sondern in der Nasen- und Mundhöhle ihrer Wirte leben, festgestellt, daß »Gruppen von verlängerten Zellen in das Lumen des Darmes hineinragen, welches dadurch, besonders am weitesten nach vorn, zu einem verzweigten, ziemlich verwickelten System von schmalen Spalten oder Kanälen reduziert wird.« Dagegen sagt er von *Ascaris lumbr.*, *Asc. megal.* und andern Nematoden, die in Organen leben, in denen ihnen eine bereits zubereitete, oder sehr leicht zu verwertende Nahrung geboten wird, daß das Darmepithel »aus einer gleich dicken Lage von Epithelzellen, ohne jede Spur von den zahlreichen Gruppen verlängerter Zellen« besteht. Er fährt fort: »In Erwägung aller dieser Punkte« (er hat nämlich für die großen Ascariden auch eine Reduktion des Oesophagus, im Gegensatz zu den von ihm beschriebenen kleinen Arten festgestellt), »glaube ich nicht zu kühn zu sein, wenn ich behaupte, daß eine Veränderung des Aufenthaltsortes und die ihnen dort zugeführten reichlicheren Mengen schon fertigen Speisebreies eine Veränderung der Darmorgane bei *Asc. lumbr.* und *megal.* hervorgerufen hat.« In bezug auf die erwähnte Büschelbildung der Darmzellen scheint mir diese Behauptung nicht genügend begründet, denn ich fand, daß auch im vorderen Teil des Mitteldarmes der großen Ascariden die von Jägerskjöld beschriebenen Gruppen verlängerter Zellen reichlich vorhanden sind (vgl. Textfig. D). Ferner fand ich bei *Ascaris gibbosa*, der im Dünndarm des Haushuhns lebt, im ganzen Darm diese Differenzierung. Es handelt sich bei dieser Büschelbildung wohl nur um eine Vergrößerung der resorbierenden Oberfläche, die im vorderen Abschnitt des Darmes deshalb besonders ausgeprägt ist, weil der Darm anfangs durch die Verbindung mit dem engen Oesophagusrohr in seiner Flächenausdehnung gehemmt ist, während er im weiteren Verlaufe (besonders bei *Ascaris megalocephala*) durch mehrfache Einfaltung der Darmwand eine resorbierende Oberfläche erhält, die sehr groß ist im Vergleich zu dem geringen Raum, den das Darmrohr im Wurmkörper einnimmt.

Textfig. D.



Nach dieser Zwischenbemerkung beginne ich sogleich mit der Schilderung der Einzelheiten, wobei ich dieselbe Reihenfolge einhalten will, wie bei *Sclerostomum*. Bei meiner Beschreibung lege ich die Darmzellen von *Asc. megal.* zugrunde, da diese am reichsten differenziert zu sein scheinen. Im Anschluß hieran gehe ich in jedem Abschnitt auf die entsprechenden Verhältnisse bei den übrigen Ascariden ein.

Im folgenden verstehe ich unter »Querschnitt« einen Schnitt quer zur Achse der cylindrischen Zellen, also einen Flächenschnitt durch den Darm. Ein »Längsschnitt« ist ein Schnitt parallel zur Längsachse der Zellen, also ein Querschnitt durch den ganzen Darm.

Den dem Lumen zugekehrten Teil der Zelle nenne ich den »oberen«, den entgegengesetzten den »unteren« oder basalen, entsprechend der Orientierung der Figuren.

Das Protoplasma. Der unten von einer Basalmembran, oben vom Stäbchensaum begrenzte Zelleib besitzt bei *Ascaris megalocephala* ein faserig alveoläres Rumpfplasma, dem eine dunkel gefärbte »Plasmakappe« (*Pk*) aufsitzt (Taf. II, Fig. 30; Taf. III, Fig. 11). Der feinere Bau des Protoplasmas ist hier nicht so gut zu erkennen wie bei *Sclerostomum* wegen der mannigfachen Einschlüsse von Granula und Glykogen. Wenn das Plasma wenig Granula enthält, so ist die reine alveoläre Natur am besten in dem Teil unterhalb der Plasmakappe wahrzunehmen. Die feinen Faserbildungen in diesem Abschnitt können auf zweierlei Weise entstanden gedacht werden: Entweder haben Diffusionsströme die Alveolen in der Richtung der Längsachse gestreckt und so in bekannter Weise Fibrillenbildung hervorgerufen (vgl. Bütschli 1892, auch Nowikoff 1905), oder es kann auch Seitendruck die Waben im Sinne der Zellachse gedehnt haben. — Im unteren Teil der Zelle ist das Plasma vielfach vacuolig, namentlich wenn die Zelle reich an Glykogen ist.

An der Basis treten meist kurze, kräftige Fibrillen (*bFbr*) auf, die, von der Basalmembran ausgehend, oft bis zum Kern, zuweilen noch darüber hinaus zu verfolgen sind (Taf. II, Fig. 35, 29, 30), manchmal aber dicht über der Basalmembran enden. Über die Lage der Fibrillen geben Querschnitte sichere Auskunft (Taf. II, Fig. 33). Wir sehen hier, daß die Fibrillen (*bFbr*) in der Zellwand liegen und als Verdickungen derselben aufgefaßt werden können. Auf dieser Figur sind die Fibrillen breite Anschwellungen der Zellwand; sie können aber auf Querschnitten auch mehr punktförmig erscheinen, wie es bei *Ascaris lumbricoides* auf Fig. 20, Taf. II (*bFbr*), zu sehen ist. Im letzteren Falle zeigen die Längsschnitte die deutlichsten Fibrillenbilder.

An einzelnen Querschnittserien kann man diese Wandverdickungen durch die ganze Zellhöhe verfolgen. Fig. 22, Taf. II, zeigt eine solche Zellgruppe in ihrer mittleren Region. Diese Verdickungen der Zellwand hat wahrscheinlich auch Hirschler (1910) gesehen, denn er sagt, »daß er nach Silberimprägnierung und Eisenhämatoxylinfärbung Stützfibrillen erhalten habe, die gewöhnlich in der Nähe der Zellenperipherie gerade vom Stäbchensaum zur Basalmembran dahin ziehen«. Auf Querschnitten hätte er sich jedenfalls überzeugen können, daß diese

Stützfibrillen nicht nur in der Nähe der Zellenperipherie, sondern direkt in der Zellwand selbst verlaufen. Daß diese Bildungen der Zellmembran stützende Funktion haben, ist sehr möglich, wenngleich dies nicht immer notwendig zu sein scheint, da sie häufig fehlt.

Von einem intracellulären Fibrillenbündel oder einem Fibrillenkörbchen um den Kern konnte ich nirgends etwas entdecken, weder auf Längs- noch Querschnitten, welche Fixierung und Färbung ich auch anwendete. Es ist mir daher unverständlich, wie BILEK (1909 u. 1910) solche auffallende Fibrillenbündel sehen konnte, wie er sie auf seinen Zeichnungen darstellt, namentlich da er, wie betont, alle nur möglichen Vorsichtsmaßregeln bei der Fixierung angewandt hat. Daß im Innern der Zellen keine Fibrillenbündel oder -körbchen vorkommen, haben auch die Münchener Autoren (GOLDSCHMIDT 1905, EHRLICH 1909, v. KEMNITZ 1902) erkannt. Ich verweise besonders auf die Erörterungen von v. KEMNITZ, S. 574—577.

Bei *Asc. lumbr.* sind diese Verhältnisse im allgemeinen sehr ähnlich denen des *Asc. megalocephala.* An einer Schnittserie fand ich dagegen besonders stäbchenartige basale Fibrillen, die dicht über der Basalmembran abgestutzt endigen (Taf. III, Fig. 10). Färberisch zeigen sie sich in engster Verbindung mit der Basalmembran, indem bei MALLORY-Färbung der untere Abschnitt der Stäbchen die blaue Farbe der Basalmembran angenommen hatte. Diese Stäbchen kommen auf der ganzen Basis der Zelle vor.

Auch bei *Ascaris mystax* fällt eine faserige Schicht an der Zellbasis auf (Fig. 27, Taf. II und Fig. 4, Taf. III *Ecp*). Doch hat sie kaum etwas mit den bisher beschriebenen fibrillären Bildungen zu tun. Ich möchte sie eher mit dem Ectoplasma bei *Sclerostomum* vergleichen, da diese Schicht sich ebenso wie jene an der Grenzbildung zwischen zwei Zellen beteiligt (Taf. II, Fig. 27 und Querschnitt Taf. II, Fig. 26). Diese Verhältnisse sind bei LUKJANOW (1888) eingehend geschildert. Auf seinen Präparaten war der von zarten Fäden in der Richtung der Zellenachse durchzogene lichte Raum höher als auf meinen; er betrug $^1/_8$—$^1/_9$ der ganzen Zellänge.

Dicht unter dem Stäbchensaum finden wir bei *Ascaris megalocephala* die schon erwähnte Kappe dichten, dunkel gefärbten Plasmas, die VAN GEHUCHTEN (1893) »le cône homogène«, K. C. SCHNEIDER (1902) »nutritorische Zone« nannte. Sie ist nicht ganz homogen, auch abgesehen von den größeren und kleineren Vacuolen, die diese Zone durchsetzen (*Pk*, Taf. III, Fig. 11 u. 7, Taf. II, Fig. 31). Sie besteht wahrscheinlich aus sehr fein alveolärem Plasma, dessen Alveolen nicht mehr

deutlich nachgewiesen werden können, weshalb man eher den Eindruck einer sehr feinen Granulation oder eines dichten homogenen Plasmas erhält. Diese Zone sitzt wie eine Kappe der convexen Oberfläche des darunterliegenden Plasmas auf. Auf die Vacuolen und ihren Inhalt komme ich später zu sprechen.

Bei *Ascaris lumbricoides* finden wir ebenfalls eine stark färbbare obere Plasmaschicht, doch ist sie hier im allgemeinen niedriger als bei *A. megal.* und besteht, wie Goldschmidt sagt, »aus einer ungleichmäßig vacuolisierenden Substanz«. Eine feine Struktur konnte ich an ihr nicht erkennen (Taf. II, Fig. 17 *Pk*). Im allgemeinen schmiegt sie sich der später zu besprechenden Deckschicht dicht an, doch kann man sie auch gelockert finden. Oft lösen sich strangartige Gebilde von ihr ab, wie Goldschmidt, Ehrlich und Kemnitz beschrieben und wiederholt abgebildet haben. Auch mir erscheint zweifellos, daß die stark färbbaren Brocken, die bei *A. lumbric.* im ganzen Zellkörper verstreut sind (Taf. II Fig. 28 *Ps*), solch abgelöste Gebilde sind, die oft, namentlich im oberen Teil der Zelle, strangförmig erscheinen, sich aber meist zu rundlichen brockenartigen Formen zusammengezogen haben. Sie gleiten meist in bestimmtem Abstand von der Peripherie der cylinderförmigen Zellen abwärts. In der mittleren Region der Zellen stauen sie sich manchmal, so daß sie einen aus Brocken und Strängen locker zusammengefügten Cylindermantel bilden (Taf. II, Fig. 21). Über die Bedeutung dieser sich von der Kappe ablösenden Brocken ein Urteil zu gewinnen, ist schwer. Daß es sich hier nicht um einen Chromidialapparat handelt (vgl. Goldschmidt 1905), wurde verschiedentlich, sowohl von Hirschler (1910), als auch von v. Kemnitz (1912) klargelegt. Ob wir es aber, wie letzterer vermutet, mit totem Nahrungseiweiß zu tun haben, das in dieser Weise dem lebenden Protoplasma zugeführt würde, ist zum mindesten zweifelhaft. Es müßte dann doch ein Abnehmen dieser Gebilde nach längerem Hungern zu merken sein, was aber weder ich noch einer der früheren Autoren feststellen konnte. Dazu kommt, daß das so ähnliche und ähnlich orientierte Gebilde bei *Ascaris megalocephala*, die »Plasmakappe«, offenbar Protoplasma und zwar funktionelles ist, wie wir später noch genauer sehen werden. Da überdies viele Eigenschaften, z. B. Dichte, Färbbarkeit, Vacuolenbildung, ja sogar die Fähigkeit, Tropfen zu bilden, (vgl. Fig. 18, Taf. II, nach einem Exemplar von *Ascaris megalocephala*, dies einige Tage gehungert hatte und diese Tropfenbildung häufig zeigte) baden Gebilden gemeinsam ist, so dürfte es wohl mit Schwierigkeiten verknüpft sein, das eine als totes Nahrungseiweiß, das andre aber als funktionelles Plasma anzusprechen.

Ähnliche Plasmagebilde, wie bei *Ascaris lumbricoides*, finden sich auch bei *Ascaris mystax*. Unmittelbar unter der Deckschicht (*D*) sieht man zwar nicht viel davon, um so mehr aber verteilen sie sich in Strängen durch die Zelle, insbesondere durch ihre obere Hälfte (vgl. Fig. 27, Taf. II *Ps*). Da diese Stränge oft dünn und meist lang ausgezogen sind, so wäre es wohl verständlich, wenn man sie bei *Ascaris mystax* für Fibrillen gehalten hätte; in der Tat spricht auch Lukjanow (1888) von einem lockeren Faserbündel, das die Zelle durchzieht. Hier, wie bei *A. lumbricoides*, ziehen die Stränge oft in bestimmtem Abstand von der Zellperipherie abwärts, der um so größer wird, je tiefer man kommt — was mit dem Glykogengehalt zusammenhängt. — Fig. 23, die einen Querschnitt durch den auf dem Längsschnitt Fig. 27 mit *a* bezeichneten Ort darstellt, zeigt diese Gruppierung der Stränge deutlich. Übrigens treten auch im Innern des Ringes meist noch einzelne Stränge auf. Diese Figur hat viel Ähnlichkeit mit Fig. 21 von *A. lumbricoides* aus der entsprechenden Region, wenn man die verschiedene Färbung beider Schnitte noch berücksichtigt. Fig. 24 zeigt einen Querschnitt durch die Stelle *b* des Längsschnittes, aus dem zur Genüge hervorgeht, daß solch plumpe Gebilde, die sich auf sehr gut fixierten Präparaten dergestalt in horizontaler Ebene schlängeln, mit Stützfibrillen jedenfalls nichts zu tun haben. Dazu kommt noch, daß sie weiter unten fast gänzlich verschwinden, wie man am Querschnitt Fig. 25 aus der Region *c* erkennt.

Über die Ausbildung des stark färbbaren Plasmas zwischen Kern und Basalmembran, (vgl. Taf. II, Fig. 28 und Taf. III, Fig. 10 bei *f.Bp*), das Ehrlich »basalen Chromidialapparat« nennt, möchte ich einiges hinzufügen. Ich will diesen Teil funktionelles Basalplasma nennen, denn daß wir es auch hier nicht mit einem »Chromidialapparat« zu tun haben, wurde von Hirschler und v. Kemnitz erwiesen. Was die mannigfache Ausbildung dieses Basalplasmas betrifft, so verweise ich auf die sehr naturgetreuen Figuren in Ehrlichs Arbeit (1909). Ich will nur noch einen Querschnitt hinzufügen und zwar durch ein besonders stark ausgebildetes Basalplasma (Taf. II, Fig. 19 *f.Bp*), wie es etwa der Fig. 67 von Ehrlich entsprechen würde. Das funktionelle Basalplasma kann sich aber auch als ringförmig angeordnete Brocken darstellen (*f.Bp*, Fig. 20, Taf. II). Wenn auf solchen Querschnitten der äußere Fibrillenkranz der Zellmembran fehlt, so ist oft schwer zu entscheiden, ob wir es mit Basalplasma oder mit den Fibrillen zu tun haben. In der Tat sind auch diese beiden Bildungen in früheren Arbeiten nicht immer genügend unterschieden worden. Goldschmidt (1905) spricht nur von den basalen Fibrillen: »Die distale, an der Basis der

Zelle dicht unter dem Kern liegende dunkle Zone wird durch eine Reihe parallel stehender chromatischer Bälkchen bedingt, die bald länger, bald kürzer sind und so dieser Schicht ein verschiedenartiges Aussehen geben. Es ist diese Struktur den bekannten Basalfilamenten gleichzusetzen.« Aus GOLDSCHMIDTs Beschreibung des Chromidialapparates in den Darmzellen von *A. lumbr.* geht klar hervor, daß er diese Bälkchen nicht für einen Bestandteil desselben hält, denn er sagt, daß die Stränge des Chromidialapparates nur »vereinzelt auch basalwärts vom Kern« vorkommen. Es scheint mir daher, daß ein Mißverständnis vorliegt, wenn EHRLICH meint, GOLDSCHMIDT hätte den »Chromidialapparat« (das nämlich, was ich funktionelles Basalplasma nannte) als aus einer Anzahl paralleler Stäbchen bestehend gesehen.

Dieses typische, stark färbbare Plasma findet sich nun auch bei *A. megalocephala*, und zwar ziemlich häufig (vgl. *f.Bp*, Taf. II, Fig. 35, Taf. III, Fig. 11).

Bei *A. mystax* hat es einen fast fibrillären Charakter, entsprechend dem oberen funktionellen Plasma *Ps* bei dieser Species (Taf. II, Fig. 26 und 27 *f.Bp*). Auf dem Querschnitt sieht man, daß die Stränge in Höhe des Kernes (26*a*, *f.Bp*) noch dünn sind und sich der Zelloberfläche anlegen; unmittelbar darunter (26*b*) werden sie dicker, treten ins Zellinnere und vereinigen sich schließlich zu einer dunklen Lage an der Basis der Zelle. Bei *A. gibbosa* findet sich fast in jeder Zelle, nahe an der Basis, eine stark färbbare Lage (oder auch ein Klumpen) funktionellen Basalplasmas.

Die Kerne. Über die Kerne, deren Ausbildung bei *A. megalocephala* und *A. lumbricoides* im wesentlichen dieselbe ist, habe ich wenig Neues zu sagen, da EHRLICH in seiner Arbeit über die Degeneration der Darmzellen (1909) dem Kern seine besondere Aufmerksamkeit geschenkt hat. Daß er nur je einen Nucleolus im normalen Kern fand, ist wohl ein Zufall, denn, wie VIGNON (1901), GOLDSCHMIDT (1905) und VON KEMNITZ (1912), so beobachtete auch ich vielfach zwei bis drei und mehr Nucleolen bei *A. megaloc.* und *lumbric.*; jedoch waren sie bei der ersteren Art im Durchschnitt zahlreicher als bei der letzteren. Daß der Kern bei *A. lumbr.* im allgemeinen näher an der Basis liege als bei der andern (vgl. GOLDSCHMIDT 1905), konnte ich nicht finden. Bei beiden variiert seine Lage in gleicher Weise. — Nucleolen, wie EHRLICH sie beschreibt, die »aus einer mit Eisenhämatoxylin nicht ganz intensiv sich färbenden Substanz bestehen, um die sich eine Kugelschale stark chromatischer Brocken legt«, beobachtete ich namentlich bei *A. lumbr.* häufig. EHRLICH macht ferner darauf aufmerksam, daß im degenerierenden Epithel

Kernzerstückelungen vorkommen. Ich muß hinzufügen, daß ich solche amitotisch entstandene Doppelkernigkeit der Darmzellen auch in normalem Gewebe bei beiden Arten fast in jedem Tiere, wenn auch vereinzelt, angetroffen habe. Es läge daher nahe, zu vermuten, daß die Zellen sich in der Regel amitotisch vermehrten, wenn nicht GOLDSCHMIDT und dann ausführlich GUIEYSSE-PELISSIER (1909) Mitosen beschrieben hätten. Ich fand lange Zeit keine, bis ich endlich in stark degenerierendem Epithel verschiedentlich Mitosen entdeckte (Taf. III, Fig. 14 *m*).

Zwei Autoren VIGNON und K. C. SCHNEIDER beschrieben bisher Centrosomen in den ruhenden Darmzellen des *A. megal.*: VIGNON (1901) zeichnet in der Mitte einer Zelle »un diplosome, absolument pareil aux centrosomes des auteurs«. Ein solches Diplosom konnte ich nicht finden. Es würde mir auch sehr gewagt erscheinen, in diesen Zellen, die reich an Granula verschiedener Art und Färbung sind, eines mit Bestimmtheit als Centrosom anzuerkennen. K. C. SCHNEIDER (1902) bemerkt folgendes über seinen Befund: »Die Limitans«, (d. i. unsre »Deckschicht« *D* zwischen Plasmakappe und Stäbchensaum), »besteht aus Desmochondren, nicht aus Basalkörnern, denn es läßt sich in der nutritorischen Region« (d. i. die Plasmakappe) »ein Diplochonder, gewöhnlich in aufrechter Stellung an günstigen Präparaten mit ziemlicher Sicherheit, wenn auch nicht besonders deutlich, nachweisen.« Hier liegt entschieden ein Irrtum SCHNEIDERS vor. VIGNON (1901) hat schon richtig erkannt und ausdrücklich betont, daß in den Vacuolen der Plasmakappe keine Diplochonder (bzw. Diplosomen) vorkommen, da die Körnchen in diesen Vacuolen inkonstant sind und oft zu mehreren in einer Zelle liegen. — Wir werden später noch näher auf den Inhalt dieser Vacuolen eingehen.

Die Kerne bei *A. mystax* unterscheiden sich von denen der andern Arten durch ihren reichen Chromatingehalt: Den dichten Maschen des Liningerüstes ist eine große Zahl von Chromatinkörnchen eingelagert. Dazu kommen ein bis mehrere große Nucleolen (Taf. II, Fig. 26).

Bei *A. gibbosa* sind die Kerne denen der großen Ascariden sehr ähnlich, nur sind sie größer (Taf. III, Fig. 15). Doch sind sie kaum relativ größer, da die Zellen von *A. gibbosa* (trotz ihrer geringeren Höhe) wegen ihres größeren Umfanges zwei- bis dreimal so viel Volumen haben als die von *Ascaris megalocephala* oder *Ascaris lumbricoides*.

Einlagerungen im Zellplasma. Während bei *A. megalocephala* niemals jene Brocken und Stränge vorkommen, die sich bei *A. lumbricoides* von der Plasmakappe ablösen, fehlen wiederum im Darm von *A. lumbricoides* jene großen ellipsoiden, manchmal lang gestreckten homogenen Ballen (*B*), die GOLDSCHMIDT (allerdings mit Vorbehalt) für Bestand-

teile des »Chromidialapparates« ansah, und jenen Brocken und Strängen bei *A. lumbr.* gleichsetzte (Taf. III, Fig. 12 *B*; Taf. II, Fig. 33 *B*). Sie können kugelrund, aber auch bis zu sechsmal länger als breit sein. Ihre Größe übersteigt selten die des Kernes. Diese Ballen erwähnten schon VAN GEHUCHTEN (1893) und viele späteren Beschreiber. Sie unterscheiden sich wesentlich von den Brocken und Strängen bei *A. lumbricoides*; denn man sieht nie, daß sie sich von der Plasmakappe loslösen. Ferner erscheinen sie völlig homogen und haben eine glatte Oberfläche. Endlich zeigen sie im Gegensatz zu den Brocken des *Lumbricoides* eine starke Neigung zum Schrumpfen (vgl. Taf. III, Fig. 12 *B*, wo der Ballen als kleiner Körper in einer großen Vacuole liegt).

In frischen wie mazerierten Zellen füllen die Körper als klare homogene Masse die ganze Vacuole aus. Übrigens kommen sie nicht regelmäßig in jedem Darm vor. Welcher Natur sie sind, konnte ich nicht entscheiden. K. C. SCHNEIDER (1902) hält sie für Nahrungsballen und nennt sie »Trophochondren«. Speziellere Annahmen machen VIGNON und VON KEMNITZ. VIGNON sagt, sie seien »de nature probablement albuminoide«, während v. KEMNITZ, der sie offenbar nicht selbst gesehen hat (vgl. S. 541), glaubt »allen Grund zu der Annahme« zu haben, »daß es sich dabei entweder um Glykogen selbst oder doch um in unmittelbarer Beziehung zu diesem stehende Zelleinschlüsse handelt.« Ich hatte oft genug Gelegenheit, diese Ballen und das Glykogen gleichzeitig in Zellen zu beobachten und ihre Unterschiede festzustellen (u. a. die starke Färbbarkeit der Ballen mit Eisenhämatoxylin). Ich bin daher eher geneigt, mich der Ansicht VIGNONS anzuschließen.

Weder bei *A. mystax*, noch bei *A. gibbosa* fand ich ähnliche Körper.

Wenden wir uns nun zu den stark lichtbrechenden Kügelchen (*Sk*), die sich bei allen untersuchten Ascariden häufig, wenn auch nicht regelmäßig finden, und über deren Natur und Bedeutung sich verschiedene Autoren aussprachen. K. C. SCHNEIDER (1902) hält sie für Excretstoffe. GOLDSCHMIDT (1905) sagt: »Über die Natur dieser Tröpfchen läßt sich schwer eine Aussage machen. Jedenfalls stellen sie resorbierte und umgewandelte Nahrungströpfchen dar und nicht Secrete, etwa Zymogen, da die Zellen des *Ascaris*-Darmes ihrem Bau nach vorwiegend resorbierend sind.« EHRLICH versucht diese Granula mit der von ihm beschriebenen Degeneration der Darmzellen in Beziehung zu bringen, ohne aber zu einem bestimmten Resultat zu gelangen, da er im normalen Epithel nicht weniger Körnchen fand als im degenerierenden. »Da ich ähnliche Granula auch in normalen Zellen angetroffen habe«, sagt er, »so ist es wahrscheinlich, daß wir es hier mit Einschlüssen von

sehr verschiedener Natur zu tun haben.« Auch fiel ihm die äußerst wechselnde Färbbarkeit der Körnchen auf. »Bei den normalen Zellen könnte man an Zymogenkörner denken, deren Auftreten gleich dem der Chromidialstränge mit der wechselnden Assimilationstätigkeit der Zellen in Zusammenhang steht.« v. KEMNITZ endlich bringt die Granula in engste Beziehung zum Auf- und Abbau des Glykogens, da er sie nur »in der Zone findet, innerhalb welcher auch die Glykogenablagerung erfolgt«. Nachdem er festgestellt hat, daß es sich nicht um eine Zwischenstufe im Glykogenauf- und abbau handle (Unlöslichkeit der Körnchen in Wasser und Unveränderlichkeit beim Erwärmen in verdünnten Mineralsäuren), und auch nicht um fettartige Gebilde, so bleibt ihm »keine andre Möglichkeit, als die Körnchen ihrer Natur nach als eiweißartige Verbindungen zu betrachten.« »Albumose und Peptone können sie nicht sein wegen ihrer großen Resistenz gegen verdauende Agentien (Pepsin und Trypsin). Es scheint mir daher wahrscheinlich, daß die Körnchen als Zymogengranula anzusprechen sind, die im Zusammenhang mit dem Auf- und Abbau des Glykogens stehen.«

Ich bin nun in der Lage, wenigstens über die Natur dieser seltsamen lichtbrechenden Körnchen Aufschluß geben zu können. Beim Studium der Sphärokristalle von *Sclerostomum* fiel mir sogleich deren Ähnlichkeit mit den früher resultatlos untersuchten, stark lichtbrechenden Körnchen der Ascariden auf. Daß sie beim Kochen mit Kalilauge oder nicht zu starken Säuren unlöslich scheinen, hatte ich schon vorher bemerkt. Daß es sich auch hier um Sphärokristalle handelte, erkannte ich nun an dem konzentrischen Bau der Körnchen (Taf. III, Fig. 18 *c*). Auch fand ich, wenn auch selten, Zwillingsformen (Taf. III, Fig. 18 *b*). Den konzentrischen Bau hat auch EHRLICH schon gesehen, wenn er von einem »meist vorhandenen centralen ungefärbt erscheinenden Fleck« spricht. Dieser Fleck erscheint bei tiefer Einstellung hell. Wir haben es also wohl auch hier mit Hohlkügelchen zu tun, deren Lumen manchmal bis zur Unsichtbarkeit klein ist, manchmal aber auch so groß, daß der dichte Teil nur noch eine dünne Kugelschale bildet. Andeutung einer radialen Struktur sah ich nur selten (Taf. III, Fig. 18 *d*). Überhaupt ist die Struktur der Kristalle wegen ihrer geringen Dimensionen meist kaum zu erkennen. Die größten haben 2—3 μ im Durchmesser, die meisten schwanken um 1 μ. Wohl versuchte ich, Doppelbrechung nachzuweisen, doch ohne Erfolg, eben wegen der Kleinheit der Kristalle, und auch weil sie nicht so stark lichtbrechend sind, als es bei *Sclerostomum* zuweilen der Fall ist.

Abweichungen von der Kugelgestalt findet man bei *Ascaris* häufiger

als bei *Sclerostomum*, woraus sich erklärt, daß man bisher niemals auf den Gedanken kam, daß es sich um Sphärokristalle handle.

Was nun die chemische Natur der Kügelchen betrifft, so machte es einige Schwierigkeiten, genügend Material zu isolieren, da sie so klein und auch bei weitem nicht so häufig sind wie bei *Sclerostomum*. Durch Kochen einer größeren Anzahl relativ dunkler *Ascaris*-Därme in 1%iger Kalilauge erhielt ich schließlich doch nach längerem Centrifugieren einen Bodensatz, der genügte, um dieselben Versuche damit zu machen, wie mit den *Sclerostomum*-Sphären. Sowohl die Reaktionen mit Baryumchlorid und Ammoniumoxalat als auch die Flammenreaktion führten zu demselben Resultat wie bei *Sclerostomum*. Es handelt sich auch hier im wesentlichen um Gips.

Die bei *Sclerostomum equinum* und den großen Ascariden nachgewiesenen Gipssphären scheinen bei den Nematoden weit verbreitet zu sein. Ich fand sie ebenso bei *Sclerostomum quadridentatum*, ferner sehr zahlreich bei *Ascaris mystax*, wo auch LUKJANOW (1888) sie gesehen hat, denn er beschreibt »sphärische Körnchen von gelblich brauner Farbe, die er »wenigstens zum Teil« für Fett hält. Außerdem fand ich sie bei *Ascaris gibbosa*, bei *Heterakis vesicularis* und in einer *Ascaris* aus dem Dorsch.

In der Literatur werden häufig Granula erwähnt, die mir mit diesen Sphären identisch zu sein scheinen. Schon LEUCKART schreibt 1873/76: »Bei *Dochmius trigonocephalus* und *Sclerostomum hypostomum* kommen . . . eigentümliche feste Körner vor, die durch ihre optischen und physikalischen Eigenschaften fast an die Excretkörner der Trematoden erinnern und bald reihenweise nebeneinander von der Außenwand« (nämlich der Darmzellen) »sich erheben, bald auch den ganzen Innenraum der Zellen erfüllen und letzterem dann (*Dochmius*) ein fast kreidiges Aussehen geben. Gegen Reagentien besitzen diese Körner eine bedeutende Resistenzkraft, so daß sie kaum als Fettkörner in Anspruch genommen werden können. Ohne nähere Kenntnis der chemischen Konstitution muß ich es natürlich unentschieden lassen, ob dieselben direkt aus dem Darmkanale stammen, oder ob sie als Produkte des Stoffwechsels erst nachträglich abgelagert sind. Die letztere Angabe gewinnt dadurch einige Wahrscheinlichkeit, daß die Zahl der Körner mit dem Alter der Parasiten zunimmt.«

Auch bei pflanzenparasitischen Nematoden scheinen sie vorzukommen, denn BÜTSCHLI (1873, bemerkt: Es »werden namentlich bei den frei lebenden Vertretern dieses Genus« (nämlich *Tylenchus*) »in den Darmzellen eine sehr große Menge farbloser, jedoch stark lichtbrechender Körner entwickelt, die häufig eine recht beträchtliche Größe erreichen, und dem Darm nicht selten das Aussehen eines den Leib durchziehenden Körnerstranges verleihen. Bei den größeren Vertretern dieser Gattung, die ich gesehen habe, dem *Tylenchus Askenasyi* und dem *Tylenchus fungorum* ist diese Beschaffenheit des Darmes nicht mehr so ausgeprägt, sondern derselbe sieht dem Darm andrer freilebender Nematoden ähnlicher, indem er mit kleinen gelbbraunen Körnern reichlich ausgestattet ist. —

Daß die Sphären auch bei dauernd freilebenden Nematoden vorkommen, scheint mir aus einer Angabe ZUR STRASSENS (1904) über *Anthraconema* hervorzugehen. »Die

Zellen der Darmwand enthalten in wechselnder, vom Alter und wohl auch bestimmten Verdauungszuständen abhängiger Menge jene dunkelbraunen rundlichen Körner, die den Würmern zumeist ein so tief schwarzes Aussehen verleihen. In der Größe zeigen die Körner alle Grade von etwa 3 μ bis zu verschwindend kleinen, wonach sich annehmen läßt, daß sie in den Darmzellen entweder gebildet oder vernichtet werden.« Sehr wahrscheinlich handelt es sich auch hier um ähnliche Sphärite, wenn auch über das Lichtbrechungsvermögen der Körner nichts gesagt ist, was wohl seinen Grund in ihrer dunkelbraunen Farbe hat; denn wenn, wie es nicht selten ist, die Sphären von *Sclerostomum* und *Ascaris* braun gefärbt sind, so ist ihre starke Lichtbrechung bedeutend verringert.

Möglicherweise sind auch die kleinen runden dunklen Körnchen, die Jägerskjöld (1894) im Darm von *Ascaris clavata* beschreibt, solche Sphären. Ohne Zweifel aber haben wir es bei *Spiroptera turdi* mit denselben Kristallen zu tun: Der Darm der Larve von *Spiroptera turdi* ist nach Cori (1898) braunschwarz pigmentiert. Er sagt: »Bei Anwendung genügend starker Vergrößerung erkennt man, daß die braune Farbe des Darmes durch zahlreiche, in das Plasma eingeschlossene Pigmentkörnchen bedingt ist. Die einzelnen Pigmentkörnchen erscheinen in durchfallendem Lichte gelb und erweisen sich als stark lichtbrechend, infolgedessen sind sie von einer starken schwarzen Kontur umgeben«. Am vorderen und hinteren Abschnitt des Darmes sind sie spärlicher.

Wir sehen aus der vorhergehenden Zusammenstellung, die sich sicherlich noch erweitern ließe, wie weit verbreitet diese Sphärokristalle bei den unter verschiedenen Bedingungen lebenden Nematodenarten sind. Es wäre deshalb interessant zu erfahren, welche physiologische Bedeutung diese Gipskristalle haben. Doch kommt man in bezug auf diese Frage über vage Vermutungen nicht hinaus, so lange man nicht Experimente anstellt oder die Entstehung der Kristalle verfolgt. Übrigens sagt Conte (1900), daß sich der Darm von *Sclerostomum* schon auf dem Rhabditisstadium mit »granulations jaunâtres« füllt. Die Kristalle haben nach meiner Ansicht nichts mit dem momentanen Verdauungszustande zu tun, während Goldschmidt aus der Tatsache, daß die Zellen viele derartige Körnchen enthalten, schließt, daß sie sich in voller Verdauung befinden. Ich fand im Gegenteil gerade bei Hungertieren besonders viele Sphären, andrerseits aber ebensoviele in Zellen, die von Glykogen erfüllt waren. — Auch haben sie, wie wir noch sehen werden, kaum Beziehungen zur Degeneration der Darmzellen. Sie scheinen sich vielmehr nach und nach in den Darmzellen zu bilden und anzusammeln, was auch daraus folgt, daß Leuckart und Zur Strassen sie in älteren Tieren am zahlreichsten fanden. Zwar schien es mir manchmal, daß die Sphären in den Zellen doch auch aufgelöst werden können, da ihre Grenzen zuweilen verschwommen und ihre Substanz stellenweise weich werden kann, wie schon hervorgehoben. Nur bin ich nicht sicher, ob solche Stadien nicht Kunstprodukte sind.

Zu den Plasmaeinlagerungen gehört vor allem auch das Glykogen. Über den Glykogengehalt der *Ascaris*-Zellen wurde bereits von Brault und Loeper (1904), von Busch (1905/06), Ehrlich (1909), besonders aber von v. Kemnitz (1912) und rein chemisch-physiologisch von Weinland (1901 a u. b) gearbeitet. Man kam zu dem Resultat, daß beide Ascariden reichliche Mengen von Glykogen in den Darmzellen, vor allem in ihrer mittleren Region enthalten können, daß dies aber nicht immer der Fall zu sein braucht, und daß der Darm beim Hungern sein Glykogen schneller abgibt als die übrigen Organe. Dieselben Beobachtungen konnte auch ich machen, doch fiel mir auf, daß bei *Asc. lumbric.* das Glykogen nicht so reichlich vorkommt wie bei *Ascaris megalocephala* und auch viel schneller beim Hungern schwindet. Bei *Ascaris megal.* fand ich, nachdem die Tiere 3 Tage gehungert hatten, noch in manchen Darmzellen einen ansehnlichen Glykogengehalt, während ich bei *Ascaris lumbric.*, wenn die Tiere einige Stunden nach Entnahme aus dem Wirtstier fixiert waren, sehr oft keine Spur von Glykogen mehr fand[1]).

Eine merkwürdige Beobachtung machte ich in bezug auf die Wasserlöslichkeit des Glykogens bei den Nematoden. Es ist in Wasser schwer löslich, ähnlich wie das Glykogen der geschichteten Epithelien, dessen Unlöslichkeit in Wasser von Ehrlich in der Enzyklopädie der mikroskopischen Technik 1883 und 1910 angegeben wird.

Diese Tatsache fiel mir auf, als ich Objekte, die in Flemmings Gemisch, oder in Sublimatalkohol oder Sublimateisessig fixiert waren, mit Bestschem Kalicarmin färbte und dann zu meiner Überraschung eine Menge Glykogen in den Präparaten fand. Ich zweifelte anfangs, ob es sich wirklich um Glykogen handelte, und versuchte daher die Jod- und Speichelbehandlung, die mich völlig davon überzeugten, daß es sich in der Tat um Glykogen handelte. Auch nach mehrstündiger Einwirkung von Wasser bei 60° C auf die Schnitte verschwand das Glykogen nicht. Erst nachdem ich die Schnitte $^1/_2$ Stunde in kochendem Wasser gelassen hatte, zeigten sie sich ganz frei von Glykogen.

Daß der Grund für die Schwerlöslichkeit des Glykogens notwendig in der festen Bindung an eine Trägersubstanz zu suchen ist (vgl. Ehrlich 1883 und 1910), glaube ich nicht. Ich habe nirgends in der Literatur

[1]) Von 15 Exemplaren z. B., die sofort nach dem Schlachten der Schweine fixiert wurden, enthielt nur eines einen ansehnlichen Glykogenvorrat, während die andern meist gar kein Glykogen, oder nur vereinzelt Spuren desselben aufwiesen. Die Wirtstiere waren, wie üblich, 24 Stunden vor dem Schlachten zum letztenmal gefüttert worden.

stichhaltige Gründe für die Existenz einer »Trägersubstanz« gefunden[1]). (Ich verweise auch auf die kritischen Ausführungen über die »Trägersubstanz« bei von Kemnitz, S. 515.) Viel eher ist anzunehmen, daß es sich (Abderhalden, Kemnitz) um eine besondere molekulare Zusammensetzung des Glykogens in diesem Falle handelt.

Daß sich das Glykogen niemals im Stäbchensaum nachweisen läßt, und daß die Synthese des Glykogens aus Monosacchariden erst im Innern der Darmzellen vor sich gehen muß, hat von Kemnitz ausführlich erörtert. Daß aber die Synthese nicht auf die Weise geschieht, wie er glaubt, nämlich vermittelst der stark lichtbrechenden Körnchen, folgt unmittelbar daraus, daß die Körnchen wesentlich Gipskristalle sind. Den Bildungsort habe ich bei *A. megal.* in der Plasmakappe gefunden. Taf. III, Fig. 7, zeigt einen Querschnitt durch die Plasmakappe. In den Vacuolen derselben kann man je ein Glykogentröpfchen (*Gl*) oder -bröckchen erkennen, das oft ganz klein und kaum sichtbar in einem zarten, die Vacuolen ausfüllenden Gerüst liegt. Nur die vorzügliche Methode des Glykogennachweises von Best macht es möglich, diese minimalen Glykogenmengen in der Plasmakappe sicher zu erkennen. Auf Längsschnitten (Taf. III, Fig. 11) kann man verfolgen, wie die Glykogentröpfchen anwachsen und wie die Vacuolen sogar ein wenig in den Spalt zwischen zwei Zellen hineingepreßt werden können. Doch sah ich nirgends, daß das Glykogen in diesen Spalt hinaus trat; vielmehr wandert es in der Zelle basalwärts, verläßt die Kappe und begibt sich in die Zellmitte zur Aufspeicherungsstätte des Glykogens. Dabei hält es sich sehr oft in bestimmtem Abstand von der Zellperipherie, ähnlich wie wir das für die Stränge und Brocken bei *A. lumbr.* sahen (Taf. III, Fig. 6). Daher kommt es auch, daß man auf Längsschnitten vielfach zwei getrennte Streifen Glykogens antrifft (auf Fig. 11, Taf. III, im oberen Teil der Glykogenablagerungsstätte).

Auf Fig. 2, Taf. III, die nach einem Präparat von *A. mystax* (wo die Verhältnisse ganz ähnlich liegen, wie bei den großen Ascariden) bei starker Vergrößerung gezeichnet wurde, sieht man, wie das Glykogen die einzelnen Alveolenreihen in Richtung der Längsachse der Zelle ausfüllt. Ist das Glykogen nicht so reichlich abgelagert, so entsteht das von Ehrlich erwähnte feine Netz, das er auf seiner Fig. 14, Taf. IV, darstellt. Ich glaube übrigens nicht, daß das in dieser Weise angeordnete Glykogen sich in der lebenden Zelle wesentlich anders darstellt, als auf

---

[1]) Es sei denn, daß der von Kau Kato (1909) neuerdings erbrachte als ein solcher anzusehen wäre.

gut fixierten Schnitten, und daß die Strangbildung, wie v. Kemnitz meint, dadurch hervorgerufen wird, daß »das Glykogen Fibrillen oder sonstigen Stützelementen adhärierend ausgefällt wurde«.

In der unteren Hälfte der Zelle hört die fadenförmige Aneinanderreihung der Glykogenpartikelchen auf. Hier wird das Plasma grobvacuolig (Taf. III, Fig. 4) und diesen Vacuolen schmiegt sich das Glykogen in unregelmäßig angeordneten Brocken an. Das regelmäßige Auftreten der Vacuolen unterhalb der Region, wo das Glykogen aufgespeichert wird, und die Tatsache, daß das Glykogen den Vacuolenwänden eng anliegt, führt zur Vermutung, daß die Vacuolenbildung mit der Zersetzung oder Lösung des Glykogens im Zusammenhang steht. Nach Weinland (1901b) wird das Glykogen von *Ascaris* in Kohlensäure und Valeriansäure zersetzt, wobei Wasserstoff frei wird. Daher liegt es nahe, anzunehmen, daß diese Vacuolen, die bei der Glykogenzersetzung frei werdenden Gase enthalten, daß wir es also in dieser vacuolenreichen Region mit der von Weinland nachgewiesenen tierischen Gärung zu tun haben.

Das Glykogen, das für die Lebensprozesse der Darmzellen nicht mehr verwandt wird, gleitet zwischen Zell- und Kernwand (oft dem Kern dicht anliegend — im Kern sah ich niemals Glykogen —) weiter zur Zellbasis und tritt dort häufig in enge Berührung mit dem funktionellen Basalplasma. Ob dieser Kontakt nur ein äußerlicher und zufälliger ist, oder ob hier im funktionellen Basalplasma die den Abbau des Glykogens bedingenden Fermente gebildet werden, ähnlich wie wir die aufbauenden in dem entsprechend dunkel färbbaren Plasma der Zellkappe zu suchen haben, wage ich nicht zu entscheiden. Das häufige Fehlen des funktionellen Basalplasmas scheint ein Grund gegen eine solche Annahme zu sein.

Wie schon erwähnt, ist das Glykogen bei *A. mystax* ähnlich angeordnet wie bei den großen Ascariden. Bei dieser Art fand ich immer Glykogen in reichlichen Mengen. Wie groß der vom Glykogen eingenommene Teil der Zelle ist, geht aus Lukjanows (1888) anschaulicher Beschreibung hervor:

»In der Mitte der Zelle, und zwar in ihrem Achsenteile findet sich eine Art Höhlung von mehr oder weniger ellipsoider Form. Die beiden Gewölbe dieser Höhlung sind durch das innere und äußere Ende, die Seitenwände durch die Seitenteile der Zelle gebildet. Längs dieser Höhlung zieht sich ein ziemlich lockeres Faserbündel durch; dasselbe beginnt in der Nähe des Kernes, der auf dem Boden der erwähnten Excavation zu liegen scheint. Von hier zieht das Faserbündel nach dem Gewölbe hin, welches vom inneren Ende der Zelle gebildet wird.«

Denken wir uns diese von LUKJANOW beschriebene Höhle mit Glykogen ausgefüllt, so haben wir das Maximum der Glykogenanhäufung in den Darmzellen, wie es z. B. der Fig. 25 auf Taf. II entspricht, die nach einem mit Eisenhämatoxylin-Säurefuchsin gefärbten Präparat gezeichnet wurde, dessen Glykogen (*Gl*) ein wenig mit Säurefuchsin gerötet war. Eine mittelgroße Menge Glykogen zeigen die Zellen auf Taf. III, Fig. 3. Von dem von LUKJANOW als Faserbündel beschriebenen axialen Plasma ist hier zufällig nichts vorhanden.

Auch bei *A. gibbosa* fand ich regelmäßig Glykogenmassen, und zwar hauptsächlich in der unteren Hälfte der Darmzellen, wo sie in größeren homogenen Klumpen, in enger Verbindung mit zahlreichen Vacuolen auftreten.

Von sonstigen Plasmaeinschlüssen will ich noch feinste dunkel gefärbte Körnchen erwähnen, die namentlich in der Zone unterhalb der Plasmakappe oft recht zahlreich vorkommen, und sich mit Vorliebe den feinen, von gestreckten Plasmaalveolen gebildeten Fasern anlegen.

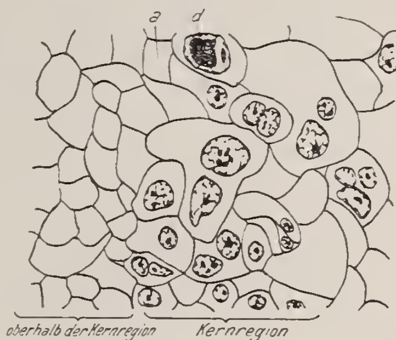
K. C. SCHNEIDER nennt sie »Desmochondren«. VIGNON scheint dieselben Granula gesehen zu haben (1901), denn er bemerkt, daß unter gewissen Umständen «le cytoplasma apparaît tout ponctué de granulations en forme de courts bâtonnets». Jedoch fügt er sehr vorsichtig hinzu: «Une étude spéciale serait nécessaire pour déterminer s'il faut leur attribuer le rôle d'une ergastoplasme ou si nous avons affaire ici à quelque produit artificiel, résultant de l'action du réactif fixateur.« Neuerdings hat GUERRINI (1910) diese Körnchen zum Gegenstand einer Arbeit gemacht. Er sieht sie als Secretgranula an und führt die sehr verschiedene Ausbildung der Darmzellen von *A. megal.* auf die verschiedenen Stadien dieser Secretbildung zurück. Von einem Ausgestoßenwerden der Granula sagt er nichts. Ich muß es mir versagen, auf diese Arbeit näher einzugehen, schon aus dem Grunde, weil ich die Färbung (nach GALEOTTI) und die Experimente, welche er beschreibt, nicht nachgemacht habe. Übrigens zeugen die Figuren und der Text von merkwürdigen Irrtümern in bezug auf die histologische Beschaffenheit der Zellen.

Die Beschreibung von Secretionsvorgängen werde zurückgestellt bis nach der Besprechung des Stäbchensaumes. Es seien daher zunächst die Degenerationserscheinungen besprochen, über die R. EHRLICH eine ausführliche Arbeit (1909) veröffentlicht hat. Ich fand häufig degenerierendes Darmepithel bei *A. lumbric.* und *megaloc.*, und zwar sowohl die »nucleolare Degeneration« als auch die »cytoplasmatische«. Den sorgfältigen Ausführungen EHRLICHS muß ich im allgemeinen durchaus zustimmen. Nur wenige Bemerkungen seien daher zugefügt.

Als besonders leicht degenerierende Partien des Darmes der großen Ascariden fand ich die Gegenden dicht hinter dem Oesophagus und vor dem After.

Kernzerstückelungen habe ich häufig im degenerierenden Epithel gefunden. Und zwar, je stärker die Degeneration, um so häufiger war die Doppel- ja Vielkernigkeit einer Zelle. Taf. III, Fig. 14, zeigt eine Stelle, deren Epithel in Gefahr ist, völlig zu degenerieren, wenn nicht die hier auftretenden Mitosen (*m*) genügenden Ersatz für die zahlreichen ausgeschiedenen Zellen bewirken. Hier fand ich kaum eine Zelle mit einem einzigen Kern, dagegen Vielkernigkeit, wie in der linken Zelle, garnicht selten. — Der Querschnitt Textfig. E stammt von einer Epithelzelle, wo die Degeneration scheinbar eben überwunden war. Degenerierende Kerne kommen nur noch vereinzelt vor, doch sieht man an der Vielkernigkeit der Zellen und an der Unregelmäßigkeit ihrer Dimensionen (Zelle *a* hat den für *A. lumbric.* normalen Durchmesser), daß eine reichliche Ausstoßung von Zellen vorausgegangen war, und daß sich in die dadurch entstandenen Lücken die benachbarten Zellen ausgebreitet haben und gleichzeitig sich die gesamte Kernmasse stark vergrößert hat.

Textfig. E.



Hinsichtlich der cytoplasmatischen Degeneration habe ich beobachtet, daß es nicht nur dann zu einer Ausstoßung der Zelle kommt, wenn der stark färbbare Plasmabrocken den Kern vor sich herschiebt, sondern auch häufig dann, wenn das stark färbbare Plasma sich oberhalb des Kernes ausbildet (vgl. Textfig. D bei *a*).

Vielfach ließ sich am Kern der nach cytoplasmatischer Degeneration austretenden Zellen nicht die von Ehrlich beschriebene Abweichung vom normalen Kern erkennen. Ich fand ihn oft weder zusammengedrückt und verkleinert, noch waren Nucleolus und Kernnetz undeutlich gesondert; alles am Kern erschien vielmehr normal.

Auf einen Punkt möchte ich näher eingehen, dessen Erklärung Ehrlich Schwierigkeiten machte. Es handelt sich um die Beziehung zwischen den Sphärokristallen und der cytoplasmatischen Degeneration. Ehrlich bemerkt: »Soweit die Granula zu Haufen vereinigt in Vacuolen beobachtet wurden, kann ihre Abstammung von den zerfallenen Zelleinschlüssen als sicher gelten, zumal da alle Stadien ihres Auftretens innerhalb dieser Gebilde, und ihres Freiwerdens bei deren Zerfall, aufgefunden werden konnten. Dagegen sind mir verschiedene Fälle von Granulaanhäufung

innerhalb des Plasmas selbst begegnet, bei denen die Erklärung ihres Zustandekommens, eben wegen der nicht mit Sicherheit zu findenden Übergangsstadien, auf Schwierigkeiten stößt.« Ehrlich kommt dann auch für diese Granulaanhäufungen zu der Vermutung: »daß es sich um Zerfallsprodukte handelt, die aus der umschließenden Vacuole ins Plasma gelangt sind und sich dort verstreut haben«. Denn »für Secretkörner sind sie in ihrem Vorkommen viel zu selten«. — Daß die Kristalle in den von Ehrlich beschriebenen Vacuolen zu Haufen vereinigt sind, und zwar in einer dunkel färbbaren Masse eingebettet (Taf. II, Fig. 34), habe auch ich oft beobachtet. Daß aber diese Kristallhaufen etwas mit der cytoplasmatischen Degeneration zu tun haben, möchte ich bezweifeln. Denn einmal habe ich diese kristalliefernden Plasmaeinschlüsse auch in durchaus normalen, in voller Verdauung befindlichen Zellen gefunden, und außerdem sind die Kristalle so häufig, daß man kaum einen Darm ohne sie findet, demnach schließen müßte, daß die cytoplasmatische Degeneration fast jeden Darm und jede Zelle heimgesucht hätte, was doch kaum anzunehmen ist. Dazu kommt dann noch der Vergleich mit *Sclerostomum* und andern Nematoden, bei denen die Sphären durchaus regelmäßig und normal vorkommen.

Zweifelhaft bleibt, ob die Sphären wirklich in dem dunkel gefärbten Inhalt dieser Vacuolen entstehen, und wenn sie dort gebildet werden, ob das ihr normaler Bildungsgang ist. Denn erstens habe ich bei *Sclerostomum* nur einmal ein ähnliches, aber kleines Gebilde gefunden, obgleich hier doch die Sphären so überaus zahlreich sind, und zweitens waren die Sphären in den Epithelien, in denen solche Vacuolen häufig sind, eigentümlich verändert: sie waren nicht mehr stark lichtbrechend, und oft von unregelmäßiger Form. Einige zeigten Andeutung einer radialen Struktur (Fig. 18 *d*), für andre gilt das, was Ehrlich bemerkt: »Die Auftreibung einzelner Körnchen durch eine centrale Vacuole deutet auf einen Auflösungsprozeß hin.«

Basalmembran und Stäbchensaum. Der Abschluß der Darmzellen nach außen geschieht durch eine Basalmembran (*Bm*), über deren Struktur und Verbindung mit den Zellen die verschiedensten Ansichten geäußert wurden (Leydig (1885), van Bömmel (1895), van Gehuchten (1893), Ehrlich (1909) u. a.). Bis auf einige gleich zu besprechende unrichtige Behauptungen heben sich die Widersprüche der Autoren leicht auf, wenn man möglichst viel Material betrachtet. Dabei stellt sich nämlich heraus, daß die Basalmembran verschieden ausgebildet sein kann. Ihre Dicke schwankt zwischen 3 und 15 μ. Sie ist bald ein- bald zweischichtig, wobei zuweilen die äußere Schicht, zuweilen die innere

dicker ist; die innere Schicht ist manchmal von feinen Vacuolen durchsetzt, so daß sie einen schwammigen Eindruck macht, auch sah ich ganz vereinzelt feine Kanälchen oder Fädchen die Membran durchziehen (Taf. II, Fig. 29).

Diese verschiedenen Zustände der Basalmembran hängen wohl alle mit dem jeweiligen Durchtritt verdauter Nahrung durch die Darmwand zusammen. Stellenweise (namentlich bei *A. lumbr.*) zeigt sich die Basalmembran aus feinsten Lamellen aufgebaut (vgl. auch die Figuren in Ehrlichs Arbeit).

Die Verankerung der Zellen an die Basalmembran ist eine sehr feste. Sie geschieht zunächst dadurch, daß — wie Leydig beschreibt — die Basalmembran »in der Profilansicht leistenartige Erhebungen zwischen die Zellen, also Waben in der Flächenansicht erzeugt zum Umgreifen oder zur Aufnahme von Gruppen von Epithelzellen«. Die Zellen sind also an ihrem unteren Ende mehr oder weniger convex (Taf. II, Fig. 29). Daß sie aber kegelig zugespitzt enden, wie Leydig sagt, und wie van Bömmel auf seiner stark schematischen Figur zeichnet, habe ich nicht finden können. Daß ein plasmatisches Fransenwerk die Basalmembran durchdringt (Leydig 1885), konnte ich nirgends sehen. Wohl habe ich auf einer Serie die Zellen an ihren untern Enden in Fransen aufgelöst gefunden, wie Leydig es beschreibt und in Fig. 53 abbildet, aber es war eine Serie durch ein Tier, das offenbar lange gehungert hatte, und an dem die Darmzellen schon im Absterben begriffen gewesen waren, obgleich es sich vor der Fixierung noch bewegte. Ich glaube daher nicht, daß es sich bei der Fransenbildung des Zellendes um eine normale Erscheinung handelt.

Eine weitere Verankerung der Zellen an der Basalmembran besteht darin, daß diese kurze zapfen- und lamellenartige Vorsprünge ins Plasma aussendet (Taf. II, Fig. 36 *b*). An diesen Vorsprüngen inserieren die beschriebenen mit Eisenhämatoxylin stark färbbaren basalen Fibrillen (Taf. II, Fig. 29; Taf. III, Fig. 10). Die Verbindung von Zelle und Basalmembran ist auf diese Weise eine recht feste; dennoch wird sie bei der Mazeration meist gelöst. Dann hebt sich die Basalmembran unversehrt von der Zelle ab (Taf. II, Fig. 36) und man kann an ihr schön die großen (*a*) und kleinen (*b*) Erhebungen, Zapfen oder Lamellen erkennen, als Negativ der Zellbasen.

Bei *A. mystax* und *gibbosa* sind die Verhältnisse kleiner, sonst im wesentlichen dieselben wie bei *A. megal.* und *lumbr.*

Wenden wir uns nun der Begrenzung der Zellen gegen das Darmlumen zu! Ich will hier, wie bei *Sclerostomum* Deckschicht und Stäb-

chensaum unterscheiden (vgl. *D* und *St* auf den Fig. 5 u. 1, Taf. III). Die Deckschicht besteht auch hier aus einem äußerst feinen Alveolenwerk, entsprechend den obersten Schichten der Deckplatte bei *Sclerostomum*. Ein Flächenschnitt der Deckschicht gibt ein Bild, ähnlich wie es Fig. 15, 17, Taf. II bei *D* darstellen. Auf Längsschnitten der Zellen erkennt man, daß die Schicht bei *A. megal.* aus zwei übereinanderliegenden Wabenreihen besteht, die allerdings nur auf besonders guten Präparaten mit der Schärfe zu erkennen sind, wie sie Fig. 5, Taf. III, zeigt. Am deutlichsten ist die Doppelschicht bei *A. mystax* (Fig. 1, Taf. III) zu sehen. Bei *A. lumbricus* und *A. gibbosa* zeigt die Deckplatte meist nur eine Alveolenlage. Auch bei *Ascaris megalocephala* kann dies vorkommen. Wir sahen ja auch, daß bei *Sclerostomum* die Anzahl der Schichten wechseln konnte.

Es ist interessant zu verfolgen, daß das gewöhnliche Vorkommen eines Basalkornes an den Cilien die Autoren verleitet hat, auch diese Deckschicht von *Ascaris* als aus Körnchen bestehend zu deuten. Van Gehuchten (1893), K. C. Schneider (1902), N. Holmgren (1902), Studnička (1899), Guieysse-Pelissier (1909), Guerrini (1910) beschreiben alle für die *Ascaris*-Arten, daß der Stäbchensaum einer aus Körnchen bestehenden Schicht aufsitzt. Van Gehuchten und K. C. Schneider sahen zwar nicht immer Körnchen, sondern oft eine zusammenhängende dunkle Linie (so wie auch v. Kemnitz sie in seiner Fig. 49, Taf. XXXVI, abbildet). K. C. Schneider sagt von der nach ihm aus »Desmochondren« bestehenden »Limitans«, d. i. unsre Deckschicht, daß ihre »Auflösung in einzelne Körnchen selbst an sehr dünnen Schnitten kaum gelingt«(!). Holmgren dagegen behauptet: »Bei der von mir untersuchten *Ascaris megalocephala* sind die Blepharoblasten ziemlich groß.«

Der Bau des Stäbchensaumes ist im wesentlichen derselbe wie bei *Sclerostomum*. Nur findet man hier niemals eine Mehrstöckigkeit (von einem Fall bei *A. gibbosa* abgesehen, den ich in Fig. 15, Taf. III, dargestellt habe). Auch bei den Ascariden können die »Stäbchen« so fein werden, daß der Saum homogen erscheint, doch findet man nie einen so locker gebauten Saum wie den bei *Sclerostomum* (Fig. 12, Taf. I). Da die Stäbchen meist recht dicht aneinanderliegen, so ist es schwierig, günstige Querschnitte zu finden, an denen man die Struktur so deutlich erkennen kann wie bei *Sclerostomum*. Dennoch konnte ich mich an äußerst dünnen Schnitteilen — noch ehe ich *Sclerostomum* untersuchte —, davon überzeugen, daß es sich auch hier um langgestreckte Alveolenreihen handelt, die auf dem Querschnitt stark verdickte Knotenpunkte — eben die Stäbchen — aufweisen und deren Seitenwände je nach der Kon-

servierung mehr oder weniger zerrissen sind. Bei der Fixierung in CARNOYscher Flüssigkeit sind sie am besten erhalten, und man bekommt dann auf günstigen Schnitten Stellen, wie die nach einem etwas schräg verlaufenden Querschnitt durch Deckschicht und Stäbchensaum von *A. lumbric.* abgebildete (Fig. 14, Taf. II bei *St*). Am günstigsten für das Studium der Deckschicht und des Stäbchensaumes erwies sich *A. mystax* (Taf. II, Fig. 15; Taf. III, Fig. 1). Hier ließ sich auch erkennen, daß die Grenzen der Zellbezirke im Stäbchensaum durch größere Waben markiert sind (Taf. II, Fig. 15 bei *Gr*).

Ähnliche Zellgrenzen im Cuticularsaum finden sich auch bei Arthropoden. Sie wurden von BÜTSCHLI (1898, S. 344, Atlas Taf. XIII, Fig. 4) am Chitinpanzer von *Astacus* gefunden. KAPZOV z. B. beschreibt sie (1910) bei *Lucanus cervus*. An diesem Objekt sind ebenso wie bei *Ascaris* die Grenzen der Zellen durch größere Waben markiert.

Die Tatsache, daß bei den von VAN GEHUCHTEN (1892) als Secretion beschriebenen Vorgängen der Stäbchensaum sich stets als Ganzes abhebt und nicht einzelne Stäbchen sich von ihrer Basis lösen, wird verschiedentlich, z. B. auch von VIGNON (1901) damit erklärt, daß eine »substance unissante, deposée entre les bâtonnets de la brosse, fait de celle-ci une sorte de membrane«. — Haben wir nun aber den Stäbchensaum als ein Wabenwerk erkannt und die Stäbchen untereinander verbunden gesehen durch zarte Wabenwände, so ist die Annahme einer Kittsubstanz überflüssig.

Ob die sogenannten Stäbchen nun direkt von den zusammenstoßenden Alveolenwänden gebildet werden, oder ob sie ein Ausscheidungsprodukt derselben sind, läßt sich wohl kaum entscheiden. Ein färberischer Unterschied zwischen den Stäbchen und den sie verbindenden Lamellen ist mir nicht aufgefallen. Die einheitliche Färbung war meist die gleiche wie die der Basalmembran. — Daß es sich aber bei den Stäbchen nicht um eine chitinige oder dem Chitin nahe verwandte Substanz handelt, (wie N. HOLMGREN (1902) meint in Analogie mit den Stäbchensäumen des Insektendarmes), geht schon daraus hervor, daß der Stäbchensaum bei Verdauungsversuchen mit Pepsin zu allererst angegriffen wird. —

Über die Entstehung und den Bau des Stäbchensaumes sind seit KÖLLIKERS Entdeckung der gestreiften Cuticula an Darmepithelien (1856) mannigfache Ansichten geäußert worden. Ich will nur die berücksichtigen, welche sich speziell auf die Nematoden beziehen. LEUCKART (1873—76) beschreibt, der damaligen Anschauung entsprechend, »deutliche Porenkanälchen«, die man an der inneren Darmcuticula erkenne, und betont, daß die Nematoden besonders schöne Beispiele hierfür lieferten. — LEYDIG (1885) sieht einen »an starr gewordene Cilien erinnernden Cuticularsaum«. Nach seiner Zeichnung zu schließen, sind die Stäbchen auf seinem Präparat zu kleinen Gruppen zusammengetreten, wie es bei manchen Konservierungsmitteln häufig vorkommt (vgl. die von mir Fig. 12, Taf. I, dargestellte Partie eines Stäbchensaumes

von *Sclerostomum*). — VAN GEHUCHTEN dagegen ist es unbegreiflich, wie LEYDIG die Cuticula von *A. megal.* so habe sehen können, denn er wiederum findet meist nur eine »cuticule homogène« und zuweilen eine feine Strichelung darin. Die Unsicherheit, ob es sich bei den Ascariden um einen gestreiften Saum oder eine homogene Cuticularschicht handelt, zieht sich noch bis in die letzten Jahre hinein, denn BILEK z. B. behauptet (1909 a), daß *A. lumbric.* eine homogene Cuticula habe, während er bei *A. megal.* die Streifung fand. — In der Tat kommen ja, namentlich bei *A. lumbric.*, aber auch bei *A. megal.* — nie aber bei *A. gibbosa* und *A. mystax* — Exemplare vor (Taf. III, Fig. 5 und 11), deren Stäbchensaum teilweise oder auch ganz homogen erscheint, selbst bei Anwendung stärkster Linsensysteme. EHRLICH scheint es häufig mit ähnlichen Tieren zu tun gehabt zu haben, denn er sagt, daß der Stäbchensaum bei *Asc. lumbr.* meist undeutlich sei und stellt ihn vielfach homogen dar. — GOLDSCHMIDT und V. KEMNITZ meinen, daß die anscheinende Homogenität des Stäbchensaumes von schlechter Konservierung herrühre, denn der Stäbchensaum mazeriere leicht. Ich habe im Gegenteil gefunden, daß nach Mazerationsmethoden, die ich anwandte, der Stäbchensaum eher deutlichere Streifung zeigte als vorher. Ferner sah ich, daß der Stäbchensaum gerade an den bestfixierten Präparaten ein homogenes Aussehen haben kann, während er z. B. auf Schnitten durch jenes hungernde Tier, dessen Darmzellen im Absterben begriffen waren, sehr deutlich gestreift erschien. Da außerdem auf ein und derselben Schnittserie der Stäbchensaum stellenweise nahezu homogen, an andern Stellen deutlich gestreift erscheint, oder auch Übergangsstadien zeigt (Taf. III, Fig. 5), so glaube ich, daß das wechselnde Aussehen des Stäbchensaumes mit der jeweiligen Funktion der Darmzellen (ihrer Resorptionstätigkeit) zusammenhängt.

Die meisten Autoren sind sich darin einig, daß es sich hier um einen »Stäbchensaum« handelt. Abgesehen von BILEK tritt nur einer dagegen auf, nämlich STUDNIČKA, der den Cuticularsaum einer von ihm untersuchetn *Ascaris spec.* (die Abbildung hat viel Ähnlichkeit mit den Darmzellen von *A. lumbr.* oder *A. mystax*) für einen aus nicht flimmernden Wimpern gebauten Saum hält. Er betont dies im Gegensatz zu den echten Stäbchensäumen, die nach ihm nur im Darm der Wirbeltiere und in den Nierenkanälchen vorkommen, und deren Stäbchen identisch seien mit den Fußstücken der Cilien. Es fehlt eben immer noch an einer bestimmten Definition des Begriffs »Stäbchensaum«. Die von H. JOSEPH im Gegensatz zu den »Bürstensäumen« und »Flimmern« aufgestellte Definition wird jedenfalls von denjenigen nicht anerkannt, die — mit Recht oder wie bei den Nematoden mit Unrecht — an der Basis der Stäbchen Körnchenreihen sehen[1]).

Bei den Nematoden ist der »Stäbchensaum« eine Grenzbildung des Zellplasmas, die den Abschluß der Darmzellen nach dem Darmlumen zu bildet, die Färbung der Basalmembran annimmt, und aus langgestreckten, von der Zelle sich erhebenden Wabenreihen besteht. Der Stäbchensaum sitzt einer, die Befestigung auf der Zelle vermittelnden, aus einer bis wenig Alveolenlagen bestehenden »Deckschicht« auf.

---

[1]) Nach H. JOSEPH (1903) sind die Stäbchen der Darmepithelzellen plumpe, weiche, wenig scharf begrenzte Gebilde, die sich optisch und färberisch von Cilien und Borsten unterscheiden. Es findet sich an ihnen niemals die geringste Andeutung von basalen Körnchen. — Dagegen sind die echten Cilien und Borsten immer sehr dünne, dabei scharf lineare Gebilde und besitzen am Grunde Basalkörperchen, die JOSEPH — als Verteidiger der LENHOSSEK-HENNEGUYschen Lehre von der Homologie von Centrosom und Flimmerbasalkörperchen — für Centrosome hält.

Secretion. VAN GEHUCHTEN (1892) hat eine Ausstoßung von Secretmassen zu sehen geglaubt. Er beschreibt, wie der Stäbchensaum an einzelnen Zellen durch darunter sich ansammelnde Secretmassen abgehoben worden sei, «et par l'ouverture du plateau sort une vésicule arrondie, plus ou moins volumineuse, occupée dans nos préparations fixées par une substance finement granuleuse». Er wird heftig bekämpft von J. FRENZEL (1891), der diesen Vorgang für ein Artefakt hält. Zu derselben Ansicht gelangt auch VIGNON (1901), indem er hinzufügt, «Il est particulièrement intéressant ici, d'opposer à la brutalité du processus considéré, à tort par VAN GEHUCHTEN, comme physiologique, la délicatesse et la complexité de l'appareil protecteur tel que la cellule l'a confectionné.» VIGNON konnte nirgends einen solchen Vorgang sehen, wie ihn VAN GEHUCHTEN beschreibt. Ich muß nun gestehen, daß ich ihn ganz vereinzelt, und zwar an schlecht fixiertem Material gesehen habe, ebenso an frischem, wenn es schon einige Zeit unter dem Deckglas gelegen hatte. Wir haben es hier offenbar mit einem Artefakt zu tun. Diese Behauptung begründet VAN BÖMMEL ausführlich (S. 209—210) und kommt zu dem Resultat, daß der ganze Vorgang nichts andres ist als ein Zerfließen des Protoplasmas infolge Druck des Deckglases.

Ich würde diese Tatsache nicht weiter hervorgehoben haben, wenn nicht in dem neu erscheinenden Handbuch der vergleichenden Physiologie (1909 . . .) BIEDERMANN diesen von VAN GEHUCHTEN beschriebenen »Secretionsvorgang« ohne weitere Kritik zitiert hätte.

Was nun meine eignen Beobachtungen über Secret- bzw. Excretionsvorgänge bei *Ascaris* betrifft, so habe ich zunächst häufig, besonders auffallend bei *A. mystax*, beobachtet, daß die Stäbchen meist auf der Grenze zwischen zwei Zellen, aber auch innerhalb derselben, auseinandergepreßt werden durch einen Flüssigkeitstropfen, der entweder farblos, oder — wie bei *A. mystax* — von einem blassen granulären Inhalt erfüllt ist. Daß dieser Flüssigkeitstropfen aus der Zelle hinaus und nicht in sie hereintritt, erkennt man daran, daß die durch den Tropfen gebildete Lücke im Stäbchensaum nach außen abgerundet ist entsprechend dem Vordringen des Tropfens. Bei *Ascaris mystax* fand ich im Darmlumen solch kugelige Tropfen, die häufig ineinandergeflossen waren. Nun könnte man in diesen Fällen noch einwenden, daß derselbe Vorgang vorliege wie bei VAN GEHUCHTEN, nur daß hier der Austritt des Zellinhaltes nicht so heftig geschehe, daß der ganze Stäbchensaum abgehoben wird. Dieser Einwurf gilt aber jedenfalls nicht mehr für einen Secretions- (bezw. Excretions-)vorgang, der sich bei *A. megaloc.* verfolgen läßt. Der Querschnitt (Fig. 16, Taf. II), der schräg durch den Stäbchensaum und

die Deckschicht geführt wurde, gibt eine Vorstellung von einem solchen Secretionsvorgang. (Fig. 17 ist eine kleine, stark vergrößerte Partie daraus.) Hier sieht man in der Deckschicht und im Stäbchensaum, meist zwischen den Zellen, Vacuolen (*sec*), in denen ein kaum färbbares Gebilde liegt, das manchmal wie ein zerknittertes Häutchen aussieht. Die Vacuolenwände zeigen teils keine Besonderheiten (vgl. Fig. 16 *a*, Taf. II), größtenteils aber sind sie ringsum oder nur streckenweise mit einer körnigen Masse belegt, die sich mit Eisenhämatoxylin oder Orange sehr stark färbt. Über dem Stäbchensaum ist stellenweise eine Anhäufung von solchen stark färbbaren Körnchen oder Bröckchen zu sehen. Dazwischen sieht man helle bläschenartige Gebilde, die offenbar aus dem Innern einer solchen Vacuole ausgetreten sind.

Im Darmepithel einiger Ascariden (namentlich *A. megal.*) fand ich zuweilen dunkle geschrumpfte Zellen (vgl. Taf. II, Fig. 22 *dz*), die teils vereinzelt, teils auf Querschnittbildern in langgestreckten schmalen Zügen vorkommen. Um dieselbe Erscheinung handelt es sich wohl auch im Darmepithel von *Limnadia*, in dem Nowikoff (1905, S. 598) schmale dunkle Zellen zwischen den normal aussehenden bemerkte. Er vermutet, daß es sich um »eine durch Fixierung hervorgerufene abnorme Erscheinung« handelt. Ich kann diese Vermutung für *Ascaris* noch bestimmter aussprechen, da ich solch abnorme Zellen meist nur nach Einwirkung von Alkohol-Essigsäure, nicht aber nach Fixierung mit Carnoys und Flemmings Gemisch traf.

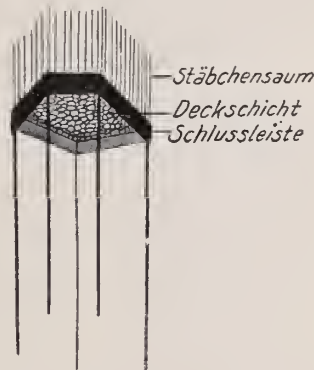
Zwischenzellbildungen.

Auf Längsschnitten sieht man zwischen den Zellen in Höhe der Deckschicht ein mit Eisenhämatoxylin oder Säurefuchsin stark färbbares punkt- oder auch strichförmiges Gebilde (Fig. 1, 5, 11 *S*, Taf. III). Es reicht meist 1 bis wenige μ unter das Niveau der Deckschicht hinab (Taf. III, Fig. 1 u. 5 und Textfig. H). Weiter basalwärts geht es bei den meisten Ascariden in die nicht so stark färbbare und dünnere Zellmembran über. Nur bei *A. megal.* setzt es sich in eine Membran fort, auf die wir später noch zu sprechen kommen. — Auf Querschnitten durch die Region der Deckschicht (Taf. II, Fig. 16, 17 *S*) bemerkt man, daß die Zellen hier geradlinig begrenzt und lückenlos miteinander verbunden sind durch ein mit Eisenhämatoxylin intensiv geschwärztes Netz (*S*), das dem auf Längsschnitten soeben beschriebenen stark färbbaren Gebilde entspricht. Wir haben es hier mit den in der Literatur als **Schlußleisten** bekannten Gebilden zu tun. Diese umgeben als schmale Leisten (Textfig. F) das oberste Ende der Zellen. Irgendeine

feine Struktur ist an ihnen nicht zu erkennen; sie machen vielmehr den Eindruck, als ob sie aus einer Kittsubstanz bestehen, oder mit einer solchen imprägniert seien, um die Intercellularräume nach dem Darmlumen abzuschließen.

Solche Schlußleisten wurden zum ersten Mal von M. Heidenhain (1892) beschrieben. Er schildert (leider ohne Zeichnungen) am Darmepithel des Salamanders im Niveau der Basalstückchen der Cilien scharfe, mit Eisenhämatoxylin geschwärzte Linien zwischen den Zellen. Nach seiner Vermutung werden diese Linien von einer Kittsubstanz gebildet. Er nennt sie deshalb »Kittlinien«. Th. Cohn (1895 u. 1897) beschäftigte sich dann eingehend mit diesen Gebilden und wies ihre weite Verbreitung an Darm-, Drüsen- und andern Epithelien (mit und ohne Intercellularräume) nach. Durch Studien am Hühnerembryo stellte er fest, daß sie an Abkömmlingen aller drei Keimblätter vorkommen, und daß sie gleichzeitig mit der epithelialen Anordnung der Zellen entstehen und vergehen. Cohn nannte diese Gebilde Schlußleisten (auch wohl Kittleisten), worin ihm die späteren Autoren meist folgten, während die Bezeichnung »Kittlinien« nach Bonnet für eine unter den Schlußleisten befindliche Zwischenzellsubstanz reserviert wurde, deren kittartige Natur aber stark bezweifelt wird. Carlier (1896) und Bonnet (1895) bestätigten Cohns Beobachtungen und vermuteten wie er, daß die Schlußleisten die Funktion haben, den Lymphabfluß zu verhindern, oder die Säfteabgabe zu regulieren.

Textfig. F.



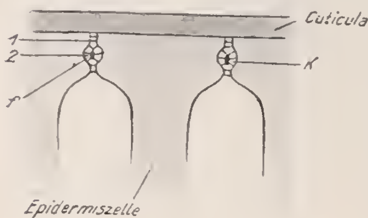
Auch K. W. Zimmermann (1898), Studnicka (1899), Holmgren (1901), Joseph (1903) und viele andre bestätigen das häufige Vorkommen der von Cohn definierten Schlußleisten. Als ihre wesentlichen Merkmale wird betont: 1. daß sie die Zwischenzellräume nach außen, bzw. nach dem Lumen zu lückenlos verschließen, 2. daß sie nicht weit in die Tiefe zwischen zwei Zellen hinabreichen, sondern auf Längsschnitten durch die Zellen nahezu punktförmig erscheinen. — Nur Solger (1896) und Kolossow (1898) sind geneigt, den Epithelzellen Schluß- oder Kittleisten überhaupt abzusprechen. Zum mindestens verneinen sie die Existenz einer Kittsubstanz.

Sie behaupten vielmehr, daß die Intercellularlücken nach der Epitheloberfläche zu offen sind und daß das Bild der Schlußleisten dadurch entstehe, daß die Zellränder durch die Färbung imprägniert seien, oder daß die Zellen, wenn sie mit Secret gefüllt sind, sich unmittelbar aneinanderlegen, wodurch Kittlinien vorgetäuscht würden. Hier liegt offenbar eine Verwechslung der beiden von Bonnet (1895) scharf gesonderten Begriffe Schlußleisten (im Längsschnitt nahezu punktförmig) und Kittlinien (im Längsschnitt die Zellränder begleitende dunkle Linien) vor. Eine ähnliche Verwechslung scheint auch bei W. Stantschinsky (1908) vorgekommen zu sein, wie sowohl aus seinem Text, als aus seinen Bildern hervorgeht. Stantschinsky beschreibt an den Epithelzellen der Dorsalfläche der Oncidien, daß sich »vom Bindegewebe aus in die Zwischenräume zwischen den Epithelzellen Kittleisten einschieben«. Es sind

bis an die Basis der Zelle reichende Wandverdickungen, die kleine Höhlungen (»Intercellulargänge«) zwischen sich lassen, welche »sich bis unmittelbar unter die Cuticula erstrecken, wo sie ein Maschenwerk von feinsten Kanälchen bilden.« Nach den Merkmalen, die wir für Kittleisten kennen lernten, ist der Ausdruck »Kittleiste« bei STANTSCHINSKY durchaus unangebracht. Wenn überhaupt ein Gebilde an diesen Zellen mit den Kitt- oder Schlußleisten verglichen werden soll, so käme hierfür höchstens die von STANTSCHINSKY so genannte »Spiralfibrille« in Betracht. Er sagt darüber: »An der Innenwand eines jeden Kanälchens verläuft eine durch Eisenhämatoxylin intensiv färbbare Spiralfibrille.« Wenn diese Fibrille möglicherweise der Schlußleiste homolog ist, so hat sie doch jedenfalls eine andre Funktion, denn sie verbindet die benachbarten Zellen nicht an ihrem obersten Ende lückenlos mit einander, sondern liegt etwas tiefer in den vorhin erwähnten Kanälchen, während die Zellen über diesen scheinbar lückenlos zusammentreten.

Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse bei den von HACHLOV (1909) beschriebenen Epithelzellen von *Hirudo medicinalis*. Nur ließ sich hier der größeren Dimensionen wegen eine genauere Einsicht in die fraglichen Strukturen gewinnen. Auch ist die Deutung HACHLOVS eine andre als die von STANTSCHINSKY. Wie aus beifolgendem Schema (Textfig. G) hervorgeht, das ich nach dem Text und den Zeichnungen (namentlich nach dem Flächenschnitt Fig. 5, Taf. XXXVI bei HACHLOV) konstruierte, besteht hier zwischen den Zellen eine Alveolenschicht, die unmittelbar unter der Cuticula (bei 1) aus einer Alveolenreihe, etwas tiefer aber aus zwei Reihen besteht (bei 2), »welche, indem sie zusammenstoßen, eine Art fibrillärer Bildung (*f*) erzeugen«. HACHLOV nennt sie »Grenzfibrille« und hebt ihre starke Färbbarkeit mit Eisenhämatoxylin hervor. Wenn er nun behauptet, daß diese Bildungen in der Literatur als »Kittlinien« oder »Schlußleisten« bekannt seien, so ist er im Irrtum, da sie ebensowenig wie die »Spiralfibrillen« von STANTSCHINSKY die Zellen an ihrem obersten Ende lückenlos miteinander verbinden. — Eine echte Schlußleiste, die nach der Ansicht COHNS u. a. zum Verschluß der Zwischenzellräume dient, hätte weder bei den Epithelzellen von *Hirudo*, noch bei denen der Oncidien einen Sinn, da in diesen beiden Fällen das Epithel von einer zusammenhängenden Cuticula schon genügend gegen die Außenwelt abgeschlossen ist, während an den Zellen mit echter Schlußleiste entweder gar keine Cuticula, oder, wie z. B. bei *Ascaris*, ein Stäbchensaum die Zellen bedeckt, der auch keinen lückenlosen Abschluß bildet. Man vergleiche Textfig. G und H miteinander.

Textfig. G.



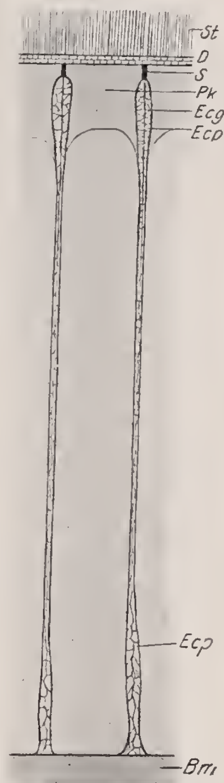
Wenn man aber annehmen will, daß die von HACHLOV und STANTSCHINSKY beschriebenen Fibrillen den Schlußleisten homolog seien[1]), so kann man wohl annehmen, daß das Vorhandensein einer zusammenhängenden Cuticula bei Oncidien und *Hirudo* verursachte, daß die ursprüngliche Schlußleiste etwas zwischen die Zellen in die Tiefe (in die Intercellularkanälchen (Textfig. G, *k*) gerückt sei und fibrillären Charakter angenommen habe, ohne jedoch ihre specifische Färbbarkeit zu verlieren. Interessant

[1]) Nach Ansicht von Herrn Geheimrat BÜTSCHLI, der die Präparate beider Autoren seinerzeit studierte, ist eine solche Homologie wahrscheinlich.

wäre es, zu erfahren, ob embryonal die die Epidermis hervorbringenden Ectodermzellen auf einem gewissen Stadium echte Schlußleisten besitzen[1]) und ob diese in der weiteren Entwicklung in jene »Grenz-« oder »Spiralfibrillen« umgewandelt werden.

Unterhalb der Schlußleiste stoßen bei den meisten Ascariden die Zellen unmittelbar zusammen; nur bei *A. megaloc.* sieht man Intercellularlücken, die auf Längsschnitten (Taf. III, Fig. 5; Textfig. H, *Ecg*) spindelförmig erscheinen und der Länge nach halbiert werden von einer feinen Linie, die durch zarte anscheinende Fasern mit den Zellwänden in Verbindung stehen. Unterhalb der spindelförmigen Spalte treten entweder die Zellgrenzen dicht zusammen (Taf. III, Fig. 5), oder lassen nur einen ganz schmalen Spalt zwischen sich (Taf. II, Fig. 34). Selten ist er so breit wie in der schematischen Textfig. H. An der Zellbasis kann dieser Spalt wieder breiter werden (Taf. II, Fig. 33; Textfig. H). Querschnitte durch die Region der spindelförmigen Lücken (Taf. II, Fig. 31) ergeben, daß die feine Linie, welche die Lücke der Länge nach halbiert, der Durchschnitt einer Membran ist, die durch anscheinende Fasern mit dem Zellkörper zusammenhängt. Ähnlich können auch die Verhältnisse an der Basis sein (Taf. II, Fig. 33). Über die Intercellularstrukturen auf halber Höhe der Zelle ermöglichen auch Querschnitte keine Einsicht. Um über die Membran selbst und ihre Beziehungen zur Zelle näheren Aufschluß zu erhalten, war es wichtig, gute isolierte Zellen zu untersuchen. Ich versuchte dies mit den für ähnliche Gewebe empfohlenen Mazerationsmethoden, vor allem mit sehr verdünnter Chromsäure (0,01—0,002%) und HERTWIGS Gemisch (Osmium-Essigsäure). Trotz vielfacher Variation, sowohl der Konzentration als auch der Dauer der Einwirkung, ließ sich jedoch kein zufriedenstellendes Resultat erzielen. Entweder waren die Zellen nicht voneinander getrennt, es sei denn, daß sie nachträglich beim Zerzupfen mechanisch auseinander-

Textfig. H.



[1]) Entsprechend den Beobachtungen, die TH. COHN (1897) am Hühnchenembryo machte.

gerissen wurden, oder, wenn sie isoliert waren, so war das Plasma zu schlecht erhalten, als daß man an ihnen einwandfreie Studien machen konnte. Auf den Rat von Herrn Prof. Bütschli versuchte ich es mit Kochen, womit namentlich Schuberg (1903) früher bei verschiedenen Objekten gute Isolationen erzielt hatte. Bloßes Kochen in Wasser war jedoch erfolglos. Als ich aber Material, das einige Stunden in 15%igem Alkohol mit etwas Jod gelegen hatte, $^1/_4$ Stunde lang kochte, wobei ich von Zeit zu Zeit einige Tropfen Jodalkohol zugab, fielen die Zellen schon nach kurzem Schütteln auseinander. Gefärbt wurden sie mit Del. Hämatoxylin-Eosin, mit Bealeschem Carmin und vor allem mit Dahliaviolett, denn diese kräftige Färbung ist für die Darstellung der zarten Zwischenzellgebilde am vorteilhaftesten.

Unter dem Mikroskop zeigte sich, daß die Zellen vollkommen isoliert waren, ohne verletzt zu sein, und daß das Zwischengewebe gut erhalten war (Taf. II, Fig. 30). Nur länger und dünner waren die Zellen, als im natürlichen Zustand. In der Höhe der Schlußleiste (Taf. II, Fig. 30 *S*) hat die Zelle jedoch ihren ursprünglichen Umfang bewahrt, woraus hervorgeht, daß die Schlußleiste ein steifes, widerstandsfähiges Gebilde ist. An der dargestellten Zelle hat sich die Membran (Taf. II, Fig. 30 *Hm*) fast vollständig abgehoben. Eine feinere Struktur ist an ihr nicht zu erkennen. Die Fasern, durch welche sie mit dem Zellkörper verbunden war, sind zerrissen. Sie sind am stärksten an den Kanten ausgebildet, wo mehrere Zellen zusammenstoßen. Diese Kanten sind als faserige, an den Zellen herabziehende Leisten (*Le*) sowohl an der Membran als auch am Zellrumpf zu erkennen.

Nun entsteht die Frage: Als was haben wir die Hüllenmembran und das daran haftende Faserwerk zwischen den Zellen anzusehen? Um zu einem Verständnis dieser Verhältnisse bei *A. megaloc.* zu kommen, vergleichen wir sie wohl am besten mit denen, welche wir bei *Sclerostomum equinum* kennen lernten. Wir sahen dort, daß das basale Ectoplasma der Zellen die Grenzen zwischen den benachbarten Zellen bildet, so daß demnach das Ectoplasma auf der Grenze beiden Zellen gemeinsam ist. Dasselbe scheint mir nun auch bei *A. megal.* der Fall zu sein. Ich halte hier das Zwischengewebe für Überreste des Ectoplasmas der Zellen und die Membran (*Hm* in Fig. 30) für die ursprüngliche Grenzlage zwischen zwei benachbarten Zellen, während die kräftig ausgebildete, häufig von Fibrillen durchsetzte Wandung des anscheinenden Zellkörpers nur die Begrenzung des Entoplasmas darstellt (Taf. II, Fig. 31. Taf. III; Fig. 5 *Eng*). — Eine Stütze erhält diese Annahme noch durch die Betrachtung der Verhältnisse von *A. mystax*. Die zarten Fasern an der Basis der Zelle

(Taf. III, Fig. 4 *Ecp*) scheinen mir dem Ectoplasma bei *Sclerostomum* zu entsprechen. Auch dieses Faserwerk setzt sich zwischen die benachbarten Zellen eine Strecke weit fort (Taf. II, Fig. 26, 27 bei *Ecp*). Bei *A. lumbric.* fällt ein Zwischengewebe nur an der Zellbasis auf (Taf. II, Fig. 19 u. 20 *Ecp*), ebenso bei *A. gibbosa.* Doch ist bei dieser Art die Zellgrenze überhaupt eigentümlich faserig. — Eine deutliche Scheidung von Ento- und Ectoplasma auf der Zellgrenze habe ich dagegen bei *Strongylus paradoxus* beobachtet.

Im allgemeinen ließe sich daher über die Verhältnisse bei *Ascaris megaloc.* sagen: daß die Zellen sich mit ihrer membranartig differenzierten Oberfläche direkt aneinanderlegen, wodurch die zarte Zwischenzellmembran gebildet wird, welche sich am freien Zellende in die Schlußleiste umbildet. Daß ferner die Fasern, welche diese Zwischenmembran mit dem Plasma verbinden, einem Alveolarsaum entsprechen, der gewisse Modifikationen erlitten hat, weshalb es auch wahrscheinlicher, wenn auch schwer nachweisbar ist, daß diese Fasern eigentlich feine Lamellen sind. Die Ableitung dieser Bildungen aus den Verhältnissen, wie sie sich in der Region der Deckschicht (vgl. Taf. II, Fig. 17) finden, wäre auf diesem Wege leicht möglich.

Zum Schluß ist es mir ein lebhaftes Bedürfnis, zunächst Fräulein Dr. Hamburger für die Anregung zu dieser Arbeit und eine Anzahl mir freundlichst überlassener Präparate herzlich zu danken, dann aber vor allem meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimrat Bütschli, für sein gütiges Interesse und seine wertvollen Ratschläge meinen aufrichtigen herzlichsten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

Abderhalden, E. 1909. Lehrbuch der physiologischen Chemie. Berlin.

Behrens, H. 1899. Mikrochemische Analyse. Hamburg und Leipzig.

Best, F. 1906. Über Carminfärbung des Glykogens und der Kerne. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. XXIII.

Biedermann, W. 1910. Artikel im Handbuch der vergleichenden Physiologie. Hrsg. von H. Winterstein. Jena 1909....

Bilek, Fr. 1909. Über die fibrillären Strukturen in den Muskel- und Darmzellen der Ascariden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCIII.

—— 1910. Noch ein Wort über die fibrillären Strukturen in den Darmzellen der Ascariden. Anat. Anz. Bd. XXXVI.

Bömmel, A. van. 1895. Über die Cuticularbildungen bei einigen Nematoden. Arb. d. zool. Inst. Würzburg.

Bonnet, R. 1895. Schlußleisten der Epithelzellen. Deutsche med. Wochenschr. Ver. Beil.

Brault, A. und Loeper, M. 1904. Le glycogène dans le développement de certains parasites. Journ. d. Physiol. et de Pathol. gén. T. VI.

Busch, P. W. C. M. 1905—06. Sur la localisation du glykogène chez quelques Parasites intestinaux. Arch. intern. de Physiol. T. III.

Bütschli, O. 1871. Untersuchungen über die beiden Nematoden der Periplaneta orientalis. Z. f. wiss. Zool. Bd. XXII.

—— 1873. Beiträge zur Kenntn. d. freil. Nematoden. In: Nova Acta Leop.-Carol. Akad. Naturf. Bd. XXXVI.

—— 1892. Untersuchungen über mikrosk. Schäume u. d. Protoplasma. Leipzig.

—— 1893. Über den feineren Bau der Stärkekörner. Verh. d. naturh.-med. Ver. z. Heidelberg. Bd. V.

—— 1894. Vorläuf. Ber. über fortges. Unters. an Gerinnungsschäumen, Sphärokrist. usw. Verh. d. naturh.-med. Ver. Heidelberg. Bd. V.

—— 1898. Untersuchungen über Strukturen usw. nebst Atlas. Leipzig.

Carlier, E. 1896. On intercellular bridges in columnar epithel. La Cellule. T. XI.

Cohn, Th. 1895. Intercellularlücken und Kittsubstanz. Anat. Hefte. 1895.

—— 1897. Über epitheliale Schlußleisten an embryonalem und ausgebildetem Gewebe. Verh. d. phys.-med. Ges. in Würzburg.

Conte, A. 1900. Sur la formation des feuillets et l'organogénie de Sclerostomum equ. C. R. d. l'Acad. des Sciences. T. CXXXI.

Cori, C. J. 1898. Beiträge zur Biologie von Spiroptera turdi. Sitz-Ber. des deutsch. naturw. Ver. für Böhmen »Lotos«.

Ehrlich, R. Die physiologische Degeneration der Epithelzellen des Ascarisdarmes. Arch. f. Zellforsch. Bd. III.

Frenzel, E. 1891. Der Mechanismus der Secretion. Centralblatt für Physiol.

Gehuchten, A. van. 1893. Contribution à l'étude du mécanisme de l'excrétion cellulaire. Cellule. T. IX.

Goldschmidt, R. 1905. Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XXI.

Guerrini, G. 1910. Di alcuni fatti di secrezione studiati nel'epitelio intestinale del-l'Asc. megaloc. Arch. Parasit. T. XIV.

Guieysse, A. 1906—07. Etudes des Organes digestifs chez les Crustacés. Arch. d'anat. micr.

Guieysse -(Pellissier), A. 1909. Etudes de la Division karykinétique des cellules épithéliales de l'intestin d'Ascaris megal. C. R. Ass. Anat. Réun. T. XI.

Hachlov, L. 1909. Die Körperwand von Hirudo medic. Zool. Jahrb. Bd. XXIX.

Heidenhain, M. 1892. Protoplasma und Zelle. Festschrift für Kölliker.

Hirschler, J. 1910. Cytologische Studien an Ascaridenzellen. Anz. d. Ak. d. W. Krakau., math. Kl. B.

Holmgren, E. 1901. Neue Beitr. zur Morph. der Zelle. Erg. d. Anat. u. Entw. Bd. XI.

Holmgren, N. 1902. Über die morphologische Bedeutung des Chitins bei den Insekten. Anat. Anz. Bd. XXI.

Jägerskjöld, L. A. 1894. Beitr. zur Kenntn. d. Nematoden. Zool. Jahrb., Anat. Bd. VII.

Joseph, H. 1903. Beitr. zur Flimmerzellen- u. Centrosomenfrage. Arb. aus d. zool. Inst. Wien. Bd. XIV.

KAPZOV, S. 1898. Unters. über d. feineren Bau der Cuticula bei Insekten Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCVIII.

KATO, K. 1909. Beiträge zur Frage des mikrochem. Nachweises des Glykogens PFLÜGERS Arch. Bd. CXXVII.

KEMNITZ, G. v. 1912. Die Morphologie des Stoffwechsels bei Ascaris lumbric. Arch. f. Zellforsch. Bd. VII. 4. Hft.

KÖLLIKER, A. 1856. Nachweis eines bes. Baues der Cylinderzellen des Dünndarmes. Würzburg. Verh. Bd. VI.

KOLOSSOW, A. E. 1898. Untersuchungsmethode des epidermalen Gewebes usw. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LII.

LEUCKART, R. 1873—76. Die Parasiten des Menschen. 1. Aufl.

LOOSS, A. 1905. Anatomy and Life-History of Ankylostoma. Records. Egypt. Governm. School. Vol. III. Cairo.

LUKJANOW, S. M. 1888. Notizen über das Darmepithel bei Asc. myst. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXXI.

NOWIKOFF, M. 1905. Untersuchungen über den Bau der Limnadia lenticularis. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXVIII.

RAUTHER, M. 1909. Morphologie u. Verwandtschaftsbeziehungen der Nematoden usw. Ergebn. u. Fortschr. d. Zool. Bd. I.

SCHNEIDER, K. C. 1902. Lehrbuch d. vergl. Histol. d. Tiere. Jena.

SCHUBERG, A. 1903. Über Zellverbindungen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXIV.

SOLGER, B. 1896. Über d. fein. Bau der Glandula submaxill. d. Menschen. Festschr. für GEGENBAUR.

STUDNIČKA, F. K. 1899. Über Flimmer- und Cuticularzellen. Prager Sitz.-Ber., math.-nat. Kl. Bd. XXXV.

VAN GEHUCHTEN, A. 1893. Contribution à l'étude du mécanisme de l'excrétion cellulaire. Cellule. T. IX.

VIGNON, P. 1901. Recherches de cytologie générale sur les épitheliums. Arch. zool. exp. T. IX.

WEINLAND, E. 1901a. Über den Glykogengehalt einiger parasitischer Würmer. Zeitschr. f. Biol. Bd. XLI.

—— 1901b. Über Kohlehydratzersetzung ohne Sauerstoffaufnahme bei Ascaris. Zeitschr. f. Biol. Bd. XLII.

ZIMMERMANN, W. 1898. Beiträge zur Kenntnis einiger Drüsen und Epithelien. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LII.

ZUR STRASSEN, O. L. 1904. Anthraconema, eine neue Gattung freileb. Nematoden. SPENGELS Zool. Jahrb. Suppl. Bd. VII.

Figurenerklärung.

Allgemeine Bezeichnungen.

as = Alveolarsaum;
B = homogene Ballen bei *Asc. megaloc.*;
b.Ecp = basales Ectoplasma;
b.Fbr = basale Fibrillen;
Bm = Basalmembran;
c = Säule im Kern von *Sclcrostom. equ.*;
chr. = Kernchromatin;
D = Deckschicht;
1 = obere, 2 = mittlere, 3 = untere } Lage;
degz. = degenerierende Zelle;
dz = dunkle Zellen bei *A. megaloc.*;
Ecg. = Ectoplasmagrenze;
Ecp = Ectoplasma;
Eng = Entoplasmagrenze;
Enp = Entoplasma;
f = Falte der Basalmembran bei *Sclcr. equ.*;
f.Bp = funktionelles Basalplasma;
Gl = Glykogen;
gr = Granula;
Gr = Zellgrenze;
Hm = Hüllmembran bei *Asc. mcgaloc.*;
L = Lamelle der Deckschicht an den Zellgrenzen von *Sclcrostomum equinum*;
n = Kern;
m = Mitose;
Pk = Plasmakappe;
Ps = funktionelle Plasmastränge;
s = »Stäbchen« des Stäbchensaums;
S = Schlußleiste;
sec = Secretbildungen;
Sk = Sphärite;
St = Stäbchensaum;
w = Alveolenwand.

Sämtliche Figuren sind bei 16 cm Tubuslänge mit ZEISS' 2 mm-Apochromat auf Objekttischhöhe gezeichnet.

Tafel I.

Sclcrostomum equinum.

Fig. 1. Stelle aus einem Darmquerschnitt. Im Entoplasma (*Enp*) ein grobes Wabenwerk 1. Ordnung, das ein feines Wabenwerk 2. Ordnung enthält. Im Entoplasma verstreut liegen Sphärite (*Sk*). Die Basalmembran (*Bm*) ist bei *f* eingefaltet. Das basale Ectoplasma (*b.Ecp*) enthält granuläre Einschlüsse (*gr*). Der Kern (*n*) ist in das basale Ectoplasma eingesenkt. Vergrößerung: Comp.-Oc. 12. Fixierung: nach FLEMMING, Färbung: Eosin-Eisenhäm.-Lichtgrün.

Fig. 2. Stelle aus einem Darmquerschnitt. Entoplasma mit Fibrillen (*fbr*). Ectoplasma (*b.Ecp*) ohne Faserung in zwei Schichten (*a* u. *b*) gesondert. Sphären (*Sk*). Basalmembran (*Bm*). Vergrößerung: Comp.-Oc. 12, Fixierung: nach CARNOY, Färbung: Hämalaun-Kalicarmin.

Fig. 3. Stelle aus einem Darmquerschnitt. Zellgrenze durch Ectoplasma (*Ecp*) gebildet. Von der Deckschicht (*D*) ragt eine Lamelle (*L*) zwischen die Zellen vor. Stäbchensaum (*St*) einschichtig. Kern (*n*) mit großer Vacuole. Basales Ectoplasma (*b.Ecp*) mit Granula (*gr*). Vergrößerung: Comp.-Oc. 4. Fixierung: Alk.-Essigs. Färbung: Eisenhäm.-Säurefuchsin.

Fig. 4. Stelle aus einem Darmquerschnitt. Entoplasma von außen zusammengedrückt. Kern (*n*) gleichfalls zusammengedrückt, mit Chromatinanhäufung (*Chr*) und Sphärit (*Sk*). Vergrößerung: Oc. 12. Fixierung nach FLEMMING. Färbung: Eisenhäm.-Säurefuchsin.

Fig. 5. Kernmodell nach Fig. 6 *a—d*.

Fig. 6. Schnitte durch Kerne vom Typus Fig. 5. *a*) längs der Säule (*c*); *b*) quer zur Säule (*c*); *c*) schräg durch die Säule (*c*); *d*) parallel zur Säule. Vergrößerung: Oc. 1. Fixierung: CARNOY. Färbung: Hämalaun-Kalicarmin.

Fig. 7 *a—d*. Schnitte durch Kerne (vgl. Text). Vergrößerung: Oc. 1. Fixierung: FLEMMING. Färbung: Eosin-Eisenhäm.-Lichtgrün.

Fig. 8 *a—d*. Schnitte durch Kerne mit großer Vacuole im Innern. Vergrößerung: Oc. 1. Fixierung: FLEMMING. Färbung: Eisenhämatoxylin.

Fig. 9. Etwas schräger Flächenschnitt durch die Deckschicht. 1, 2, 3: die drei Lagen der Deckschicht. Vergrößerung: Comp.-Oc. 12. Fixierung: FLEMMING. Färbung: Eosin-Eisenhäm.-Lichtgrün.

Fig. 10. Längsschnitt des Stäbchensaumes. Riß im Saum (*r*); austretendes Secret (*sec.*). 1, 2, 3: die drei Lagen der Deckschicht. Vergrößerung: Oc. 1. Fixierung: FLEMMING. Färbung: Eosin-Eisenhäm.-Lichtgrün.

Fig. 11. Längsschnitt durch einen Stäbchensaum mit abnormer Struktur. 1, 2, 3: die drei Lagen der Deckschicht. Vergrößerung: Oc. 1. Fixierung: FLEMMING. Färbung: MALLORY.

Fig. 12. Längsschnitt durch einen locker gebauten Stäbchensaum mit drei Stockwerken. Alveolenwand (*w*), die Fasern (*s*) verbindend. *a* = isolierte Fasern; *b* = mehrere Alveolenzüge zu einem »Stäbchen« vereinigt. Vergrößerung: Comp.-Oc. 12. Fixierung: Subl.-Alk. Färbung: MALLORY.

Fig. 13. Querschnitt durch einen Stäbchensaum. Comp.-Oc. 12. Fixierung: Subl.-Alk. Färbung: MALLORY.

Tafel II.

Fig. 14. *Asc. lumbric.* Etwas schräger Querschnitt durch Deckschicht (*D*), Stäbchensaum (*St*) und Schlußleiste (*S*). Vergrößerung: Comp.-Oc. 18. Fixierung: CARNOY. Färbung: Eosin-Eisenhäm.-Lichtgrün.

Fig. 15. *Asc. mystax.* Querschnitt durch den Stäbchensaum (*St*); die Zellbezirke sind durch größere Alveolen bei (*Gr*) markiert. Comp.-Oc. 18. Fixierung: CARNOY. Färbung: MALLORY.

Fig. 16. *Asc. megaloc.* Etwas schräger Querschnitt durch Stäbchensaum (*St*) und Deckschicht (*D*). Schlußleistennetz (*S*). Secrete (*sec*). Bei *a* enthalten die Secretröhrchen keine dunkel färbbaren Stoffe. Vergr.: Oc. 1. Fixierung: Alk.-Essigs. Färbung: Eisenhäm.-Säurefuchsin.

Fig. 17. *Asc. megaloc.* Stark vergrößerte Zellen aus dem Fig. 16 zugrundeliegenden Präparat. Bei *Pk* ist die Plasmakappe getroffen. Vergr.: Oc. 18.

Fig. 18. *Asc. megaloc.* Längsschnitt durch den oberen Teil der Zelle. Die Plasmakappe (*Pk*) ist strangartig ausgezogen (*Ps*). Ectoplasma (*Ecp*) zwischen den Plasmakappen. *D* = Deckschicht: *S* = Schlußleiste; *St* = Stäbchensaum. Vergr.: Oc. 12. Fixierung: Carnoy. Färbung: Hämalaun-Kalicarmin.

Fig. 19. *Asc. lumbric.* Querschnitt unterhalb des Kernes. Funktionelles Basalplasma (*f.Bp*). Ectoplasma (*Ecp*). Vergr.: Oc. 12. Fixierung: Carnoy. Färbung: Hämalaun-Kalicarmin.

Fig. 20. *Asc. lumbric.* Querschnitt unterhalb des Kernes. Funktionelles Basalplasma (*f.Bp*), Ectoplasma (*Ecp*) und basale Fibrillen (*b.Fbr*). Vergrößerung: Oc. 12. Fixierung: Alk.-Essigs. Färbung: Eisenhämatoxylin.

Fig. 21. *Asc. lumbric.* Querschnitt durch den mittleren Teil der Zelle. Plasmastränge (*Ps*) in gleichmäßigem Abstand von der Zellwand angeordnet. Vergrößerung: Oc. 12. Fixierung: Carnoy. Färbung: Hämalaun-Kalicarmin.

Fig. 22. *Asc. megaloc.* Querschnitt durch den mittleren Teil einiger Zellen, dazwischen dunkle geschrumpfte Zellen (*dz*). Basale Fibrillen (*b.Fbr*) ragen bis in diese Region herauf. Vergrößerung: Oc. 1. Fixierung: Alk.-Essigs. Färbung: Eisenhäm.-Säurefuchsin.

Fig. 23. *Asc. mystax.* Querschnitt unterhalb des Stäbchensaumes. Plasmastränge (*Ps*). Fig. 23—26. Vergrößerung: Oc. 12. Fixierung: Carnoy. Färbung: Eisenhäm.-Säurefuchsin.

Fig. 24. *Asc. mystax.* Querschnitt durch eine etwas tiefere Region als in Fig. 23. *Ps* = Plasmastränge; *Sk* = Sphärite.

Fig. 25. *Asc. mystax.* Querschnitt durch die mittlere Region der Zelle. *Gl* = Glykogen.

Fig. 26. *Asc. mystax.* Querschnitt durch die Kernregion. *a*: durch den Kern (*n*); *b*: etwas tiefer. *f.Bp*: funktionelles Basalplasma. *Ecp* = Ectoplasma.

Fig. 27. *Asc. mystax.* Längsschnitt durch zwei Darmzellen. Stäbchensaum (*St*), Basalmembran (*Bm*). *a*, *b*, *c*, *d*: Höhen der Querschnitte Fig. 23—26. Die übrigen Bezeichnungen wie auf Fig. 23—26. Vergrößerung: Oc. 1. Fixierung: Carnoy. Färbung: Eosin-Eisenhäm.-Lichtgrün.

Fig. 28. *Asc. lumbric.* Längsschnitt durch eine Darmzelle, Bezeichnungen wie in Fig. 27. Vergrößerung: Oc. 1. Fixierung: Carnoy. Färbung: Hämalaun-Kalicarmin.

Fig. 29. *Asc. megaloc.* Längsschnitt durch den unteren Teil der Zellen. Basalmembran (*Bm*) mehrschichtig mit sehr feiner Faserung. Basale Fibrillen (*b.Fbr*). Vergrößerung: Oc. 12. Fixierung: Subl.-Essigsäure. Färbung: Eisenhäm.-Säurefuchsin.

Fig. 30. *Asc. megaloc.* Isolierte Darmzelle. *Hm* = Hüllmembran mit Faserleiste (*Le*). Die übrigen Bezeichnungen wie Fig. 23—27. Vergrößerung: Oc. 1. Mazeriert durch Kochen mit Jodalkohol. Färbung: Dahliaviolett.

Fig. 31. *Asc. megaloc.* Querschnitt durch die Plasmakappe (*Pk*). *Eng* = Entoplasmagrenze, Begrenzung des Zellrumpfes; *Ecg* = Ectoplasmagrenze, eigentliche Zellmembran (vgl. *Hm* in Fig. 30); *Ecp* = Ectoplasma, vgl. *Le* in Fig. 30. Vergrößerung: Oc. 12. Fixierung: Alkohol-Essigs. Färbung: Eisenhäm.-Säurefuchsin.

Fig. 32. *Asc. lumbric.* Etwas schräger Querschnitt durch die »Plasmakappe« (*Pk*). Die linke Zelle ist etwas tiefer getroffen als die rechte. Vergrößerung: Oc. 12. Fixierung: Carnoy. Färbung: Eos.-Eisenhäm.-Lichtgrün.

Fig. 33. *Asc. megaloc.* Querschnitt unterhalb des Kernes mit geschrumpftem »Ballen« (*B*). Ectoplasma (*Ecp*) und basale Fibrillen (*b.Fbr*) stark entwickelt. Vergrößerung: Oc. 12. Fixierung: Alk.-Essigs. Färbung: Eisenhäm.-Säurefuchsin.

Fig. 34. *Asc. megaloc.* Längsschnitt durch den mittleren Teil der Zelle. Kristallanhäufungen. Vergrößerung: Oc. 8. Fixierung: Carnoy. Färbung: Hämalaun-Kalicarmin.

Fig. 35. *Asc. megaloc.* Längsschnitt durch den unteren Teil der Zelle. Funktionelles Basalplasma (*f.Bp*) und basale Fibrillen (*b.Fbr*). Basalmembran (*Bm*) einschichtig. Vergrößerung: Oc. 12. Fixierung: Alk.-Essigs. Färbung: Eisenhäm.-Säurefuchsin.

Fig. 36. *Asc. megaloc.* Basalmembran von oben gesehen. *a* = Erhebungen zwischen den Zellen; *b* = Erhebungen ins Innere der Zellbasis. Vergrößerung: Oc. 12. Isoliert mit verdünnter Chromsäure. Gefärbt mit Bleu de Lyon.

Tafel III.

Fig. 2—4, 6—9, 11, 13, 15 sind nach Carnoy fixiert und nach Best gefärbt.

Fig. 1, 5, 12 sind nach Carnoy fixiert und nach Mallory gefärbt.

Fig. 10, 14 sind nach Carnoy fixiert und mit Eosin-Eisenhäm.-Lichtgr. gefärbt.

Fig. 1. *Asc. mystax.* Längsschnitt durch Stäbchensaum (*St*), Deckschicht (*D*) und Schlußleiste (*S*). Vergrößerung: Oc. 12.

Fig. 2. *Asc. mystax.* Längsschnitt durch den mittleren Teil der Zelle. Glykogen (*Gl*). Plasmastränge (*Ps*), Sphäriten (*Sk*). Vergrößerung: Oc. 12.

Fig. 3. *Asc. mystax.* Querschnitt durch denselben Teil. Die Bezeichnungen sind dieselben wie in Fig. 2. Vergrößerung: Oc. 12.

Fig. 4. *Asc. mystax.* Längsschnitt durch den unteren Teil der Zelle. (Der Kern ist nicht getroffen.) Vacuolen (*vac*), von Glykogen (*Gl*) umgeben. Faseriges basales Ectoplasma (*Ecp*). Vergrößerung: Oc. 12.

Fig. 5. *Asc. megaloc.* Längsschnitt durch den oberen Teil der Zelle. Spindelförmige, von Ectoplasma (*Ecp*) durchzogene Lücken zwischen den Zellen, die der Länge nach von einer feinen Linie (*Ecg*) durchzogen wird, die der Hüllmembran in Fig. 30, Taf. II, entspricht. Vergrößerung: Oc. 12.

Fig. 6. *Asc. megaloc.* Querschnitt durch den mittleren glykogenhaltigen Teil der Zellen. *Gl* = Glykogen. Zwischen den Zellen Ectoplasma (*Ecp*). Sphäriten (*Sk*). Vergrößerung: Oc. 12.

Fig. 7. *Asc. megaloc.* Querschnitt durch eine Plasmakappe (*Pk*). In den Vacuolen Glyckogen (*Gl*). Vergrößerung: Oc. 12.

Fig. 9. *Asc. lumbric.* Querschnitt unterhalb des Kernes. Glycogen (*Gl*) und funktionelles Basalplasma (*f.Bp*). Vergrößerung: Oc. 12.

Fig. 10. *Asc. lumbric.* Längsschnitt durch den unteren Teil einer Zelle. Funktionelles Basalplasma (*f.Bp*), basale Fibrillen plump und kurz (*b.Fbr*), Plasmastränge (*Ps*), Basalmembran (*Bm*). Vergrößerung: Oc. 8.

Fig. 11. *Asc. megaloc.* Längsschnitt durch die Zelle. Basale Fibrillen (*b.Fbr*) kurz. Funktionelles Basalplasma (*f.Bp*), nahe dabei Glykogen (*Gl*), Plasmakappe (*Pk*) mit Vacuolen, die Glykogen (*Gl*) enthalten. Schlußleiste (*S*). Stäbchensaum homogen erscheinend (*St*), Sphäriten (*Sk*). Vergrößerung: Oc. 1. Fixierung: Carnoy. Färbung: Hämalaun-Kalicarmin.

Fig. 12. *Asc. megaloc.* Längsschnitt durch einen Teil der Zelle. Homogener Ballen (*B*); Glykogen blau gefärbt (*Gl*), Sphäriten (*Sk*), Kern (*n*). Vergrößerung: Oc. 1.

Fig. 13. *Sclerostomum equinum.* Teil aus einem Darmquerschnitt, veranschaulicht den Glykogengehalt (*Gl*); Ectoplasma (*Ecp*); Kerne (*n*); Lamelle (*L*) von der Deckschicht (*D*) zwischen die Zellen vorragend; Stäbchensaum (*St*); Sphäriten (*Sk*). Vergrößerung: Oc. 1.

Fig. 14. *Asc. lumbric.* Längsschnitt durch eine Zellgruppe mit Degenerationserscheinungen (*deg.z*) und Mitose (*m*). Vergrößerung: Oc. 1.

Fig. 15. *Asc. gibbosa.* Längsschnitt durch eine Zelle. Bezeichnungen wie in Fig. 11 und 4. Vergrößerung: Oc. 4.

Fig. 16 *a—c.* Normale Formen der Sphäriten bei *Sclerostomum equinum.* *b* = Zwillingsform, *c* = Drillingsform.

Fig. 17 *a—f.* Anormale Sphäritenformen von *Sclerostomum equinum.* Siehe Text.

Fig. 18 *a—d.* Sphäritenformen bei den Ascariden. Die Sphäriten in Fig. 16—18 sind stark vergrößert; vgl. die Größenverhältnisse mit denen der Sphäriten in den übrigen Figuren.

Fig. 8.



Fig 7.

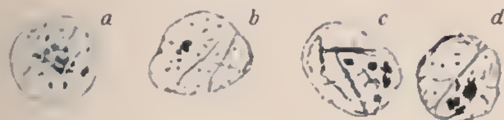


Fig. 6



Fig. 9.

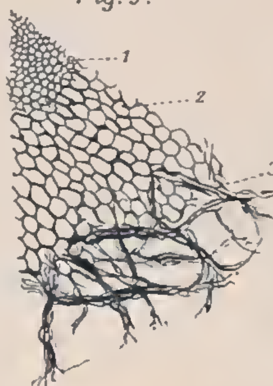


Fig. 10.

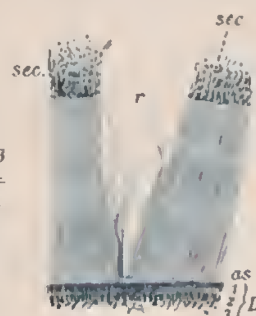


Fig. 12

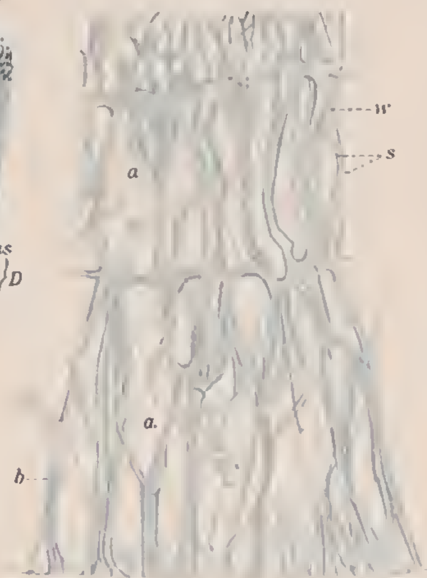


Fig. 11.

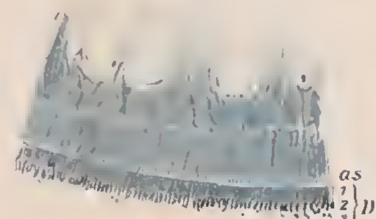


Fig. 5.



Fig. 4.

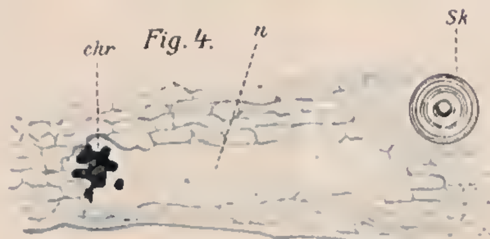


Fig. 13.



Fig. 1.

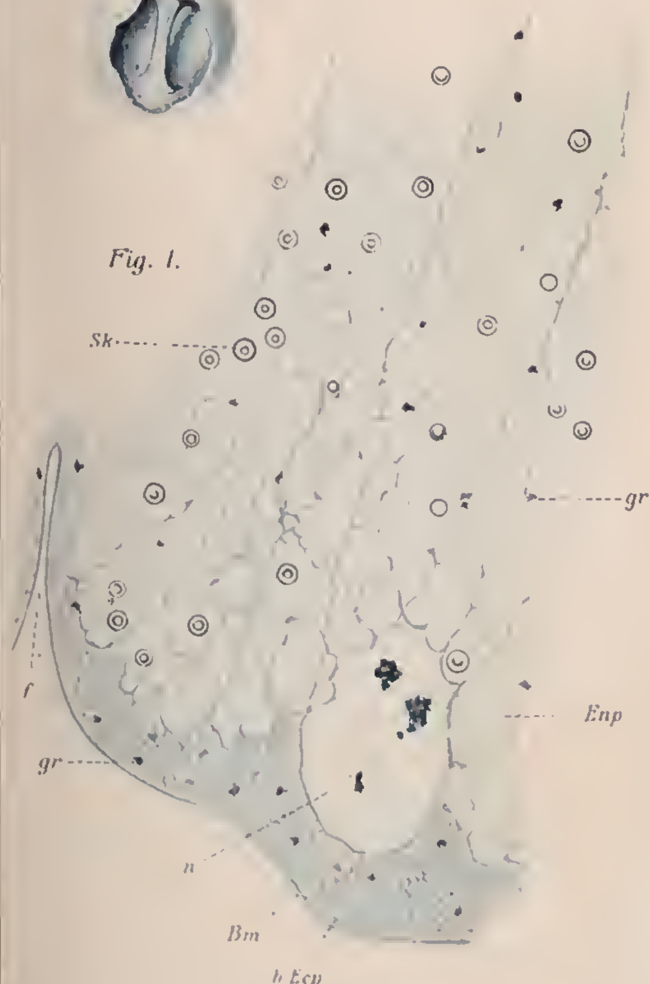
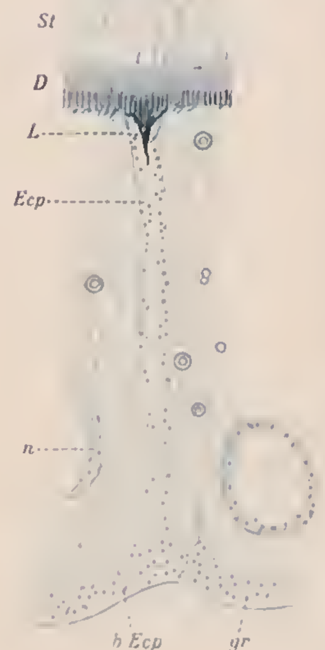


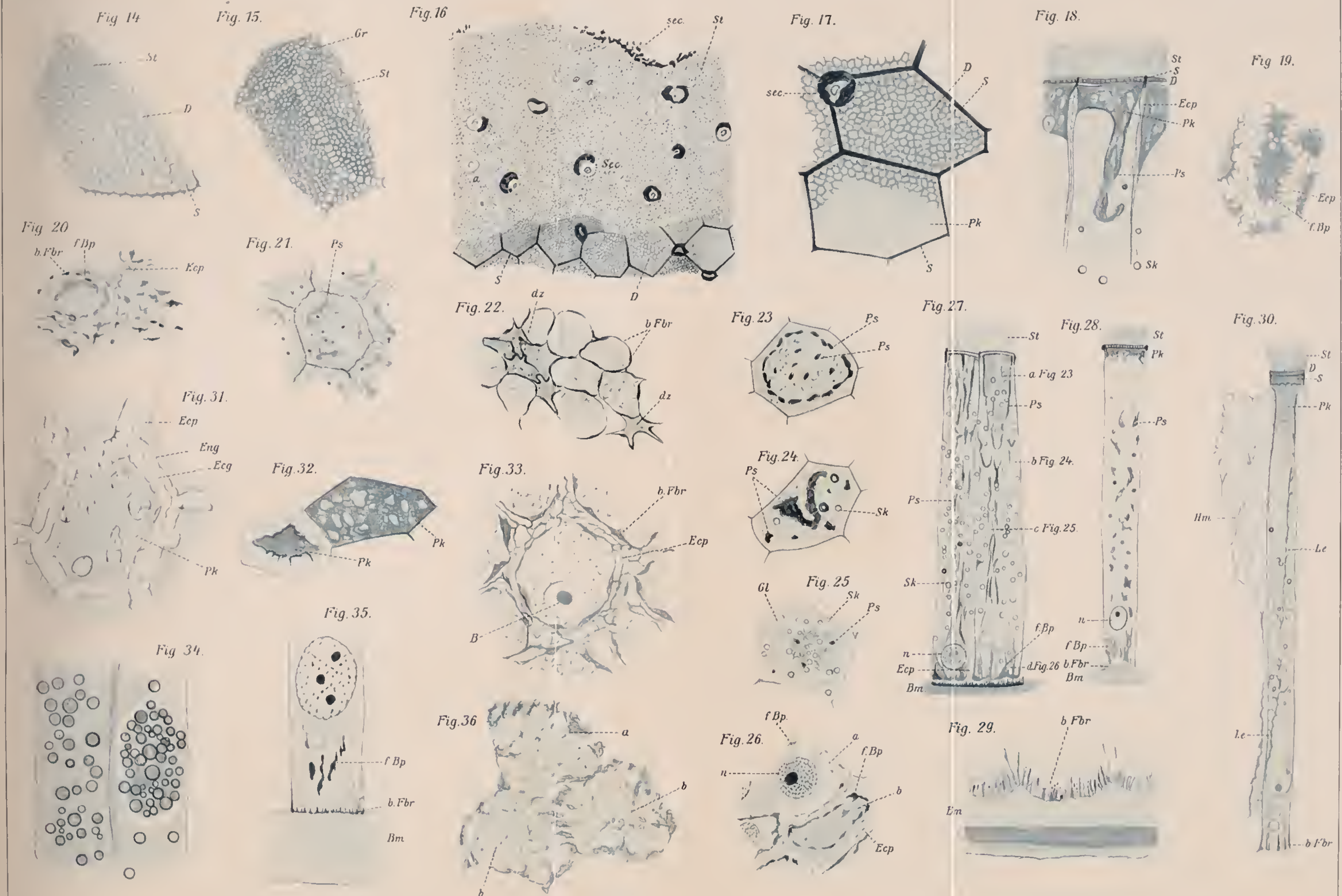
Fig. 2.



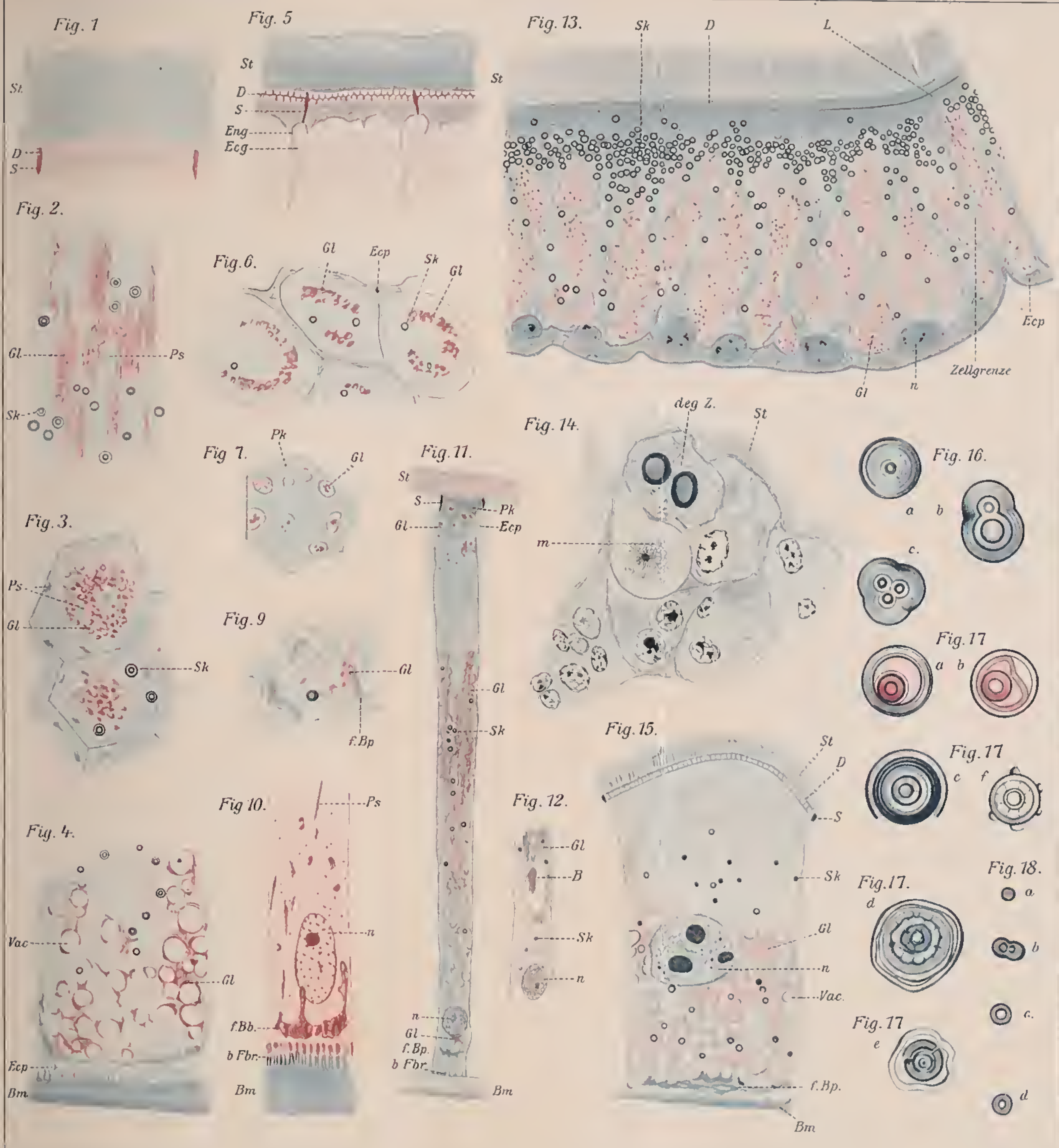
Fig 3.



Quack gez. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena



Quack gez. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig. Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.


Fig. 1
St.
D
S
Fig. 2.
Gl
Ps
Sk
Fig. 3.
Ps
Gl
Sk
Fig. 4.
Vac
Gl
Ecp
Bm
Fig. 5
St
D
S
Eng
Ecg
St
Fig. 6.
Gl
Ecp
Sk
Gl
Fig 7.
Pk
Gl
Fig. 9
Gl
f. Bp
Fig 10.
Ps
n
f. Bb.
b Fbr.
Bm
Fig. 11.
St
S
Pk
Gl
Ecp
Gl
Sk
n
Gl
f. Bp.
b Fbr.
Bm
Fig. 12.
Gl
B
Sk
n
Fig. 13.
Sk
D
L.
Ecp
Zellgrenze
Gl
n
Fig. 14.
deg Z.
St
m
Fig. 15.
St
D
S
Sk
Gl
n
Vac.
f. Bp.
Bm
Fig. 16.
a
b
c.
Fig. 17
a
b
Fig. 17
c
f
Fig. 17.
d
Fig. 17
e
Fig. 18.
a
b
c.
d

Über die Ovogenese von Dendrocoelum lacteum.

Von

József Gelei
(Assistent am Zool. Inst. Kolozsvár).

(Aus dem Zoologischen Institut in München.)

Mit Tafel IV—V.

Inhalt.

Einleitung und Technisches.

Mit der Form, Hülle und Zusammensetzung des Ovariums und mit den erwachsenen Eizellen des *Dendrocoelum* habe ich mich schon in der ungarisch geschriebenen Arbeit: Studien über die Histologie von *Dendrocoelum*, beschäftigt. Da ich noch kein Referat über meine dort mitgeteilten Resultate geschrieben habe, wiederhole ich hier kurz dieselben, um sie der Öffentlichkeit zugänglicher zu machen. Daran anschließend will ich meine neuerdings gemachten Beobachtungen mitteilen.

Als Material dienten mir ausschließlich die *Dendrocoelum*-Ovarien, die ich von August an bis zur Beendigung der Eiablage zu den verschiedensten Zeiten fixiert habe. Das Material bezog ich aus den botanischen Gärten von Kolozsvár und von München. Im Laufe meiner Arbeit werden wir sehen, daß es mir nicht ohne Nutzen war, aus so verschiedenen, weit voneinander entfernten Gegenden stammendes Material untersuchen zu können.

Die Ovarialgegend aus dem Tier herauszupräparieren bildet keine Schwierigkeit, denn das Ovarium liegt, wie schon Jijima feststellte, zwischen den vierten und fünften vorderen Darmzweigpaaren (von vorne gerechnet), und ist bei erwachsenen Tieren, die von gefressenen Asellen gewöhnlich braun gefärbte Darmäste haben, als hellerer Fleck, leicht bemerkbar.

Neben den Schnittpräparaten bediente ich mich mit Erfolg der Zupfmethode. Die Gewebe des *Dendrocoelum* sind so klebrig, daß man die am Deckgläschen zerzupften Ovarien mit beliebigen Fixierungsmitteln konservieren kann. Ich habe dabei gewöhnlich 40—50° C warme Zenkersche Flüssigkeit angewandt; in dieser beließ ich die Objekte 10 Sekunden bis 1 Minute, und brachte sie meistens noch einige Minuten in kalte Flüssigkeit. Das Zerzupfen und das Überführen in die Fixierungsflüssigkeit muß, um das Eintrocknen der Gewebe zu verhindern, recht schnell geschehen. Bei feuchter, kalter Luft kann man neben dem herauspräparierten Stück das Wasser vor dem Zerzupfen mit Fließpapier absaugen, bei trockener Luft hingegen ist es vorteilhafter, das Zerzupfen in Anwesenheit von wenig Wasser auszuführen, um dadurch das Eintrocknen zu verhindern. — Die Zupfpräparate sind zur Bestimmung der normalen und reduzierten Chromosomenzahl unentbehrlich.

Die verschiedenen Probleme, die die Ovogenesis uns stellt, hat mich veranlaßt, entsprechend den verschiedenen Zwecken sehr verschiedene Fixierungsflüssigkeiten anzuwenden. Indessen habe ich ein für alle Zwecke vollkommenes Fixierungsmittel für die weiblichen Geschlechtszellen nicht gefunden. Sehr gute Resultate erzielte ich mit warmem Zenkerschem Gemisch, welches bei 40—50, höchstens 60° C $^1/_4$—1 Stunde angewendet

wurde, ferner mit schwachem FLEMMING (1 Tag) und mit einem Gemisch aus $^1/_2$% Osmium und 2% Kaliumbichromicum (1—3 Tage). Am besten erhalten warme Flüssigkeiten die Form der Zellen und Kerne. Das Protoplasma wird am besten mit ZENKERS Lösung (18—60° C) und mit Osmium-Gemischen, die Kerngrundsubstanz mit schwachem FLEMMING, mit Osmium-Kalibichromicum und mit warmem ZENKER (50° C) konserviert. Außerdem benutzte ich noch konzentrierte Sublimatlösung, Sublimat-Eisessig (3, 5, 7, 10% : 1, 3, 5%), ein Formol (6%)-Salpetersäure (3%)-Sublimat (7%)-Gemisch, Osmiumlösung ($^1/_2$—1%), Osmium-Sublimat ($^1/_2$: 5%) und HERMANNsche Flüssigkeit.

DUESBERG hat neuerdings (1911) die Zuverlässigkeit der Wärmefixierungen, die ich selbst viel und mit gutem Erfolg benutzt hatte, in Zweifel gezogen. Ich will nachdrücklich betonen, daß es nicht gerechtfertigt ist, die Brauchbarkeit von Wärmefixierungen im allgemeinen in Zweifel zu ziehen, vor allem nicht, ohne eigene Erfahrungen an den betreffenden Objekten gemacht zu haben. Heute wissen wir längst, daß für eine bestimmte Zellart eines bestimmten Tieres ausgezeichnete Fixierungsverfahren bei derselben Zellart eines andern Tieres vollkommen versagen können; ebensowenig ist es wissenschaftlich, gewisse Verfahren aus der Mikrotechnik streichen zu wollen, wenn man in bestimmten Fällen damit Mißerfolg hatte. Ich möchte bei dieser Gelegenheit auf einen Aufsatz meines Lehrers APÁTHY [3.], den er zuerst im Jahre 1908 vor der ungarischen Akademie der Wissenschaften und, weiter ausgearbeitet, auf dem Wiener physiologischen Kongreß im Jahre 1910 vortrug, hinweisen. Dort beschäftigt er sich mit der Fixierung, Fixierbarkeit und deren Resultat, weiterhin mit der dadurch bedingten Färbung, Färbbarkeit der Gewebe und deren Resultat. Er stellt auf Grund vieljähriger Erfahrungen (s. [1.], [2.], [4.]) fest, daß in Hinsicht auf die Fixierbarkeit und Färbbarkeit nicht nur die verschiedenen Gewebe desselben Tieres, nicht nur dasselbe Gewebe verschiedener Tiere, sondern auch die Zellen ein und desselben Gewebes innerhalb eines Tieres gemäß dem physiologischen Zustande der einzelnen Zellen sich ganz verschieden verhalten. Ebenso erwähnt er auch das, daß entsprechend dem Entwicklungsgrad der verschiedenen Zellarten die Fixierbarkeit und Färbbarkeit derselben sich verändert. Im Laufe meiner Arbeit werde ich zeigen, daß wir in der Ovogenese von *Dendrocoelum* für diesen Satz nach beider, nämlich sowohl nach physiologischer wie entwicklungsgeschichtlicher Hinsicht, viele Stützen finden.

Ich habe z. B. mit der bei ovogenetischen Untersuchungen so oft erfolgreich benutzten CARNOYschen Flüssigkeit die denkbar schlechtesten Präparate erhalten und doch zweifle ich gar nicht an den Vorteilen dieser

Mischung bei andern Tieren. Ich habe selbst die Nachteile der warmen Fixierungen an jungen Dotterzellkernen gesehen (sie erscheinen dadurch ganz gelappt); die Kerne der erwachsenen Dotterzellen waren aber ebenso gut erhalten, wie mit Osmiumfixierungen. Ich habe meine Wärmefixierungen bei den weiblichen Geschlechtszellen mit den verschiedensten Osmiumfixierungen verglichen, und da ich mit den letzteren im allgemeinen keine besseren, sondern sogar — wie wir sehen werden — in mancher Beziehung nicht einmal so gute Präparate erreicht habe, kann ich sie ruhig für *Dendrocoelum*-Fixierungen unter 60° C immer empfehlen. Natürlich will ich damit gar nicht sagen, daß für spezielle Zwecke die Osmiumfixierungen entbehrlich wären.

Ich möchte noch auf die Fett- und Glykogenfixierungen näher eingehen. Wie ich es schon in meiner ungarischen Arbeit S. 111—112 erwähnt habe, benutzte ich schon früher zur gleichzeitigen Fixierung des Fettes und Glykogens eine alkoholische Osmiumlösung. Wie ich dort bemerkte, kam ich zu der Idee der gleichzeitigen Fixierung der beiden Reservestoffe ganz unabhängig von v. Kemnitz (S. 525 und bei Zieglwallner 1911), der von denselben Prinzipien geführt, wie ich, eine alkoholische (50%) Flemmingsche Flüssigkeit zu demselben Zwecke benutzt hat. Leider konnte ich von meinen Resultaten nicht rechtzeitig berichten, weil meine Arbeit bei der ungarischen Akademie der Wissenschaften zunächst als Preisschrift (1909), später zur Veröffentlichung eingereicht war. Ich habe ebenso, wie v. Kemnitz, die Erfahrung gemacht, daß das Osmium in dem Gemisch von reinem Osmiumalkohol, oder von Hermannscher Flüssigkeit durch den Alkohol reduziert wird. Ich konnte aber die Osmiumreduktion durch die Einwirkung von zwei Faktoren, Kälte und Zugabe von Oxydationsmitteln, mehrere Stunden zurückhalten oder vollständig aufheben, so daß es mir doch gelungen ist, auf diese Weise Präparate herzustellen. Einerseits kühlte ich sowohl den Alcohol absolutus und die 1 oder 2%ige Osmiumlösung bis auf 0° C und goß sie erst dann zusammen. Auch die Fixierung wurde im Eisschrank ausgeführt. Eine Fixierung in einer Temperatur um 0° C ruft nämlich für die Tricladen keinen anormalen Zustand hervor, da die Tiere diese Temperatur auch im Leben ohne Schädigung ertragen. Nach 5—6 Stunden tritt aber auch bei Kälteanwendung die Reduktion langsam ein. Besser konnte ich die Reduktion verzögern, wenn ich zu der kalten Mischung zugleich Oxydationsmittel zusetzte. Die Brauchbarkeit der Oxydationsmittel habe ich zuerst bei einer Gelegenheit kennen gelernt, wo ich das Osmiumalkoholgemisch von einer Osmiumlösung herstellte, zu der, um sie aufbewahren zu können, Spuren von Kaliumpermanganat zugesetzt waren. Mit Kälteeinwirkung

und Kaliumpermanganat kann man aber die Osmiumreduktion immer noch nicht vollständig aufheben. Auch Hydrogenium peroxydatum erwies sich als wirkungslos. Nur durch Spuren von Natrium jodatum läßt sich die Reduktion in der Kälte vollständig hintanhalten[1]). Diese reinen oder beinahe reinen Alkoholosmiummischungen haben im Gegensatze zu denen mit FLEMMINGschen, ALTMANNschen oder GOLGIschen Flüssigkeiten den großen Vorteil, daß die BESTsche Karminfärbung sehr elektiv wird, bei allerdings fünf bis zehnmal so langer Färbung, als BEST angibt.

Um eine haltbare Fett-Glykogen fixierende Mischung herzustellen, habe ich, ausgehend von der FISCHERschen Glykogenfärbemethode (1905), wo zur sekundären Fixierung des Glykogens Kaliumbichromicum benutzt wird, eine Osmium-Kaliumbichromicummischung (1 : 2—4%) zu gleichen Teilen mit Alcohol absolutus versetzt. Mit Anwesenheit von Kaliumbichromicum in der Mischung beabsichtigte ich die vollständige Unlöslichkeit des Glykogens in der 50% Alkohol enthaltenden Lösung zu erreichen. Diese Mischung habe ich zur Fixierung auch bei 0° C benutzt. Sie hat noch den großen Vorteil, daß man nachher die SCHULTZEsche Osmium-Hämatoxylinfärbung im Stück ausführen kann, und die Schnitte nur noch eine Glykogenfärbung benötigen.

Noch reichlicher als die Fixierungsexperimente waren die angewandten Färbeverfahren.

Im Stück habe ich mit Boraxkarmin (1—3 Tage), mit Hämatein I. A. (12—24 Stunden) und mit SCHULTZES Osmiumhämatoxylin tingiert.

Zur Untersuchung des Kernchromatins habe ich neben obigem benutzt: HEIDENHAINS Eisenhämatoxylin, DELAFIELDS und EHRLICHS Hämatoxylin, Safranin, Methylgrün (mit Boraxkarmin), Bleu de Lyon (mit Boraxkarmin), Lichtgrün (mit Safranin), FLEMMINGS Dreifachfärbung (Safranin-Gentianaviolett [oder Methylenblau]-Orange g), EHRLICH-BIONDIS Triacidgemisch und BENDAS Mitochondrienfärbung.

Zur Nucleolusuntersuchung: OBSTsches Boraxkarmin-Methylgrün, weiterhin Boraxkarmin-Bleu de Lyon, das ZIMMERMANNsche Fuchsin-Jodgrün, nach FISCHER-MAYER Safranin-Lichtgrün, EHRLICH-BIONDIS Triacid, Safranin-Gentianaviolett und Eisenhämatoxylin.

Für die Kernmembran: EHRLICH-BIONDIS Triacid, Eisenhämatoxylin und SCHULTZES Osmiumhämatoxylin, wenig modifiziert.

Für die Chromidien: APÁTHYS Hämatein I. A., DELAFIELDS Hämatoxylin, Eisenhämatoxylin, Osmiumhämatoxylin, EHRLICH-BIONDIS Triacid, BENDAS Mitochondrienmethode, Safranin, Thyonin, Toluidinblau.

[1]) Es ist vorteilhaft, nach diesem auch das Auswaschen des Osmiums in 50- oder 55%igem Alkohol im Eisschrank auszuführen.

Für das Centriolum und die Strahlung: Eisenhämatoxylin, Ehrlich-Biondis Triacid, Flemmings Dreifach-, Hicksons Brasilin-Eisen-, Bendas Mitochondrien-Färbemethode.

Für die Randkörnchen der Eizellen: Boraxkarmin-Bleu de Lyon, Hämatein I. A., Safranin, Flemmings Dreifachfärbung.

Für den Glykogennachweis: Jodreaktion, Paul Mayers Gallustinte und Bests Karmin.

Es wurde eingebettet in Paraffin und hauptsächlich in Paraffin-Celloidin nach Apáthy.

Ovarium.

Wie schon erwähnt, hat es Jijima festgestellt, daß die zwei Ovarien unseres Tieres zwischen dem vierten und fünften Darmzweig — von vorne gerechnet — und zwar innerhalb der Hauptnervenstämme liegen. Als Ausnahme habe ich beobachtet, daß gelegentlich am Ende beider Oviducte doppelte Ovarien in derselben Höhe auftreten. In diesem Fall liegen die zwei äußeren außerhalb der Nervenstämme. Statt dieser äußeren Ovarien fehlten aber die in Höhe der Ovarien von der Tuba ausgehenden Dotterstöcke, so daß man annehmen kann, daß die zu Dotterzellen bestimmten Zellen sich zum Ovarium entwickelt haben. Ein anderes Mal habe ich ein doppeltes Ovariumpaar hintereinander in der normalen intranervalen Lage gefunden, diese liegen aber zwischen dem sechsten und siebenten, bzw. siebenten und achten Darmzweigpaar. Bei neueren Untersuchungen habe ich sehr oft in den Dotterstöcken, welche in der Ovarialgegend liegen, einzelne oder einige Eizellen beisammen gefunden und zwar hauptsächlich in denen, welche rostralwärts in die Tuba einmünden, also vor dem Ovarium liegen; in einem Falle auch in einem Dotterstocke, der zu einem nach der Tuba folgenden Teile des Oviductes gehörte. Diese Eizellen lagen nicht sehr entfernt von der Tube, bzw. von dem Oviductus. Wilhelmi (S. 249 und 252—253) hatte ebenfalls in *Procerodes lobata* oft ein anderes vorderes Ovariumpaar beobachtet (siehe Textfig. 52 *d.ov.* bei Wilhelmi). Er hielt das, angenommen, daß die Tricladen von Polycladen abstammen, für einen atavistischen Rückschlag. Nach meinen Beobachtungen geben in den Dotterstöcken der Ovarialgegend vorkommende Eizellen vor allem dafür einen wichtigen Beweis, daß die Dotterzellen nur phylogenetisch umgewandelte Eizellen sind und zugleich bestätigen sie auch Wilhelmis obige Auffassung.

Die Ovarialanlagen treten sehr früh auf. Zu dieser Zeit besteht der Oviductus nur aus einem Zellstrang, die Hodenanlagen sind noch gar nicht bemerkbar, und an der Stelle des späteren Ovariums ist schon ein Haufen

von Zellen zu finden, in welchen auch schon einige junge Ovocyten erscheinen können.

Das Ovarium hat eine ovoide Form, mit dem spitzeren Ende nach oben gerichtet. In den jüngsten Stadien ist es plattgedrückt und steht quer, hauptsächlich dorsoventral verlängert. Auch die ganz entwickelten Ovarien sind oft zwischen den Seitendarmästen in Richtung derselben gedehnt. Die Oberfläche der Ovarien ist nicht immer eben. Manchmal reichen sproßartige Haufen von jungen Eizellen in das umgebende Gewebe hinein. Selten findet man auch abgeschnürte Eizellenkomplexe, welche degenerieren müssen, da sie nie zur Ablage kommen können. Ein anderes Mal sind die Ovarien von Strängen der dorsoventralen Muskelfasern scharf eingeschnürt, und diese Einschnürung kann bis in die Mitte reichen. Es kommt sogar manchmal vor, daß das Ovarium während seiner Ausbreitung solche Muskelfasern samt ihrem Bindegewebe umwächst. — All diese Umstände sind bei der Frage, ob das Ovarium eine eigene zellige Membran hat wie die Hoden, oder nicht, entscheidend. Nach Jijima (S. 411) und nach Chichkoff (S. 526), der sich ihm anschließt, besteht nämlich die Ovarialmembran nicht aus Zellen. Minot aber (S. 439) erklärte sie schon früher für zellig. Daß das Ovarium, obgleich Zellen von ihm in die Umgebung herausgeschoben werden können, und Muskelfasern es bis in die Mitte einschneiden können, eine zugehörige Membran hat, davon können wir uns sehr gut an heiß (mit Zenkerscher Lösung oder Sublimat) fixierten Präparaten überzeugen. Beweis liefert uns dafür weiterhin auch der Umstand, daß ein aus dem zerzupften Körper frei herauspräpariertes Ovar immer mit einer Hülle umgeben ist. Sie ist aber außerordentlich dünn und sehr nachgiebig, wie es nach den oben erwähnten Fällen auch zu erwarten ist. Wäre sie aber von zelliger Natur, so müßten wir die Zellen mindestens an jüngeren Stadien des Ovariums erkennen, wo wegen seiner kleineren Ausdehnung auch die Wandzellen nicht so sehr abgeplattet sein dürften. Ich habe ganz junge Ovarien nachgeprüft, wo erst einige diplotäne Bukettovocyten zu finden waren, und es war doch keine epitheliale Anordnung von Zellen bemerkbar. Ja es fehlte in diesem Stadium auch jede Spur einer etwaigen Membran, und das das Ovarium umgebende Bindegewebe dringt hier und dort zwischen die Ovogonien hinein. Ähnliches berichtet Schleip (S. 359) von *Planaria gonocephala*.

Ich denke mir das Zustandekommen der Ovarialmembran folgendermaßen: Das Ovarium dehnt sich durch Vermehrung und Wachstum seiner Zellen aus, und schiebt dabei die es umgebenden Gewebe vor sich her. Was nicht verschiebbar ist, wie in manchen Fällen die an beiden Enden befestigten dorsoventralen Muskelfasern, dem weicht es aus, läßt

sich durch sie einschnüren oder umwächst sie. Und dieses genannte Bindegewebe bildet um das Ovarium eine Lamelle aus Grundsubstanz. In einem Falle habe ich an der ventralen Seite einen platt an diese Membran angelegten Kern gefunden, aber auch den können wir als einen zusammengedrückten Bindegewebskern deuten. Sonst findet man keine Verdichtung des benachbarten Bindegewebes. Aber in der Umgebung des Ovariummundes, wo die Tuba sich in das Ovarium einsenkt, findet man doch wandständige Zellen, wie es Böhmig (S. 457) und, sich ihm anschließend, Wilhelmi (S. 247—248), an Seetricladen feststellten. Ob diese Epithelzellen des Ovariums oder nur wandständige Nährzellen sind, lasse ich dahingestellt. Ich bemerke noch, daß diese Zellen in Verbindung mit den Nährzellen stehen.

Jijimas Annahme (S. 412), daß das Ovarium die Tendenz habe, nach Art der Hoden eine Höhle in seinem Inneren zu bilden, ist unbegründet und hat jedenfalls ihren Grund in sehr schlechter Fixierung, wobei die sehr geschrumpften Eizellen sich von ihrem Nährgewebe abhoben und von der Mitte abrückten. In den Hoden kommt die Höhle, je mehr die Spermien von ihnen ausgeleert werden, desto mehr zur Geltung; die Ovarien zeigen aber keine innere Lücke, nicht einmal im nächsten Moment nach der Eizellenabgabe. Sie verkleinern sich auch fortwährend bei der Eibildung und bleiben immer kompakt.

Nähreinrichtungen.

Man hat schon lange festgestellt, daß die Tricladeneizellen zwischen bindegewebig-lamellös verzweigte und untereinander verbundene Zellen, zwischen die sog. Stromazellen, eingebettet sind. Die älteren Autoren hielten diese Zellen für Bindegewebszellen. Die Ovogonien liegen aber in den jungen Ovarien so kompakt nebeneinander, daß Jijima gewissermaßen mit Recht annehmen konnte, daß die Stromazellen mit den Eizellen gemeinsamer Herkunft sind; jetzt wissen wir, daß sie keine direkt umgewandelten Ovocyten sind. Ich selbst konnte beobachten, daß, obschon das Bindegewebe in die Oberfläche des jungen Ovariums hier und dort hineinragt, doch weder Zellen desselben hineindringen können, noch das Ovarium sie in sich einverleibt. Trotzdem konnte ich kaum mit den von mir benutzten Färbemitteln einen färberischen Unterschied zwischen den Nährzellen des Ovariums und den Bindegewebszellen der Umgebung feststellen. Das könnte vielleicht mit der gemeinsamen Funktion in Zusammenhang stehen. Beide sind nährstoffbefördernde Elemente des Körpers. Und in dieser Hinsicht sind die ovarialen Nährzellen am meisten

mit den verzweigten periviseeralen Bindegewebszellen vergleichbar[1]). Die Nährzellen sind durch einen fein spongiösen (nach Osmiumfixierung), manchmal alveolaren (ZENKERsche Flüssigkeit) Zellkörper charakterisiert, in welchem nach Formol-Salpetersäure-Sublimat eine gewisse fibrilläre Anordnung bemerkbar ist. Ihr ellipsoider Kern besitzt kein reichliches Chromatin. In ihnen sind zwei oder selten drei basisch-chromatische Nucleolen vorhanden, was bei Bindegewebszellen nie vorkommt. Die Nucleolen färben sich mit basischem Safranin (in Safranin-Lichtgrün), mit Fuchsin (ZIMMERMANNschem Jodgrün-Fuchsin) und mit Säurefuchsin (EHRLICH-BIONDIS Triacid).

Weil diese Zellen den Eizellen Nährstoffe zuführen, kommt es selten in ihnen zu Nährstoffablagerungen. Am häufigsten habe ich in ihnen nach Osmiumfixierung verschiedener Art Fettgranula gefunden. Da sich in den Eizellen auch Kohlehydrat in Form von Glykogen befindet, müssen die Nährzellen auch dieses zuführen, und zwar meiner Meinung nach so, wie es v. KEMNITZ für das Isolationsgewebe des *Ascaris*-Körpers (S. 497 bis 498) nachgewiesen hatte, in Form von gelöstem Zucker. Doch konnte ich in einigen Fällen in diesen Zellen, wenn sie pathologisch veränderten und degenerierenden Eizellen benachbart wären, Glykogen nachweisen, und zwar immer in der Hälfte der Zellen, welche den genannten Zellen zunächst lagen. Selbst diese Eizellen waren ungewöhnlich voll von Glykogen, was auch eben ein Zeichen ihres abnormalen Zustandes war. — Da in den Nährzellen weder bei den verschiedensten Sublimatgemischfixierungen, gleichgültig ob kalt oder warm, noch bei den verschiedensten Osmiumgemischen eine bemerkbare Fällung von eiweißartigen Substanzen zustande kommt, sondern der Zellkörper immer sehr locker ist, und sich mit Hämatein I. A. oder mit andern Hämateinen, Eisenhämatoxylin und Toluidinblau sehr wenig färbt, können wir daraus folgern, daß der Eiweißverkehr in den Eizellen wohl nicht sehr stark ist.

Ich muß noch bemerken, daß auch in den Nährzellen, wie in jeder differenzierten und ihre spezifische Funktion schon leistenden Zelle des erwachsenen, geschlechtsreifen *Dendrocoelums*, Mitochondrien nachzuweisen sind. Sie sind hier feiner und dünner, als in den Eizellen. Sie sind kleine Pünktchen, oder kurze Stäbchen — bestehend aus einigen Pünktchen — oder leicht gewundene Fädchen, welche nicht in Punktreihen auflösbar sind.

Nach JIJIMAS Meinung (S. 412) sollen die Nährzellen, welche er für umgewandelte Ovocyten hält, selbst den Eizellen zur Nahrung dienen.

---

[1]) Dieser Vergleich hat nur eine physiologische Bedeutung, keine morphologische, weil die Nährzellen keine Fortsätze haben, sie sind einfach ein lamellöses Füllgewebe zwischen den Eizellen.

Mit ihm sind Chickhoff und Graft einverstanden. Demgegenüber halten Böhmig (S. 455) und Stoppenbrink diese Zellen nur für stoffleitende Elemente. Nach meinen Beobachtungen haben beide Parteien recht. In dem wachsenden Ovarium bildet sich nämlich eine verhältnismäßig so große Menge von Eizellen, daß es unmöglich ist, daß diese einfach auf Kosten der verschwindend wenigen Nährzellen sich entwickeln können. Außerdem beobachtet man während des Wachstums kein Abnehmen der Nährzellen. Wenn aber während der Eiablage, wobei sich das Ovarium immer mehr und mehr erschöpft, die Nährzellen alle beibehalten würden, so müßten am Ende die letzteren gegen die Eizellen im Übergewicht sein. Da es nicht geschieht, und da das normale Verhältnis zwischen Ei- und Nährzellen auch in ziemlich erschöpften Ovarien erhalten bleibt, muß angenommen werden, daß die überschüssigen von ihnen resorbiert werden. Wie, das konnte ich nicht beobachten; nur soviel weiß ich, daß sie von den Eizellen nicht direkt aufgefressen werden.

Nach meinen Erfahrungen fällt das erste Auftreten der Nährzellen mit dem ersten Erscheinen der diplotänen Bukettovocyten zusammen. Arnold (S. 435) und Schleip (S. 359) haben also damit recht, wenn sie in jungen Ovarien nur zwei Arten von Zellen sehen, nämlich Stammzellen und Eizellen. Böhmig (p. 453) leitet die Nährzellen bei Seetricladen aus dem Keimlager ab, und hält sie für differenzierte Zellen. Wilhelmi dagegen (S. 248) bezeichnet sie als nicht oder noch nicht zur Reifung gekommene Keimzellen. Schleip schreibt, daß alle die reifen Ovarien von *Planaria gonocephala* zusammensetzenden drei Zellarten, Stammzellen, Eizellen und Follikelzellen (unsere Nährzellen), miteinander durch Übergangsstufen verbunden sind. Wenn wir in dem reifen *Dendrocoelum*-Ovar von Zwischenformen der drei Zellarten nicht sprechen können, so kommt das daher, daß in dieser Zeit sämtliche Stammzellen (d. i. Keimzellen) entweder zu Nährzellen oder Ovogonien entwickelt sind. Beim *Dendrocoelum* ist es sicher, daß die Nährzellen nicht aus Ovocyten entstehen, wie Jijima (S. 412) meint, denn ich hatte so viel mit jungen Ovocyten zu tun, daß mir Umwandlungsformen unbedingt hätten zu Gesicht kommen müssen; auch Schleip findet gar keinen Grund für Jijimas Annahme. Ob die Nährzellen nun direkt aus den Keimzellen hervorwachsen, oder aus jüngeren oder älteren Ovogonienteilungen entstehen, das läßt sich durch direkte Beobachtung nicht entscheiden. Leider gibt uns darüber auch die Entwicklung und das Wachstum der Ovarien keinen Aufschluß, weil da die verschieden weit entwickelten Geschlechtszellen nicht in differenzierten Zonen aufeinander folgen. Wäre dies der Fall, so könnten wir aus der Zone, in welcher zuerst Nährzellen erscheinen, auf die Entstehung der letzteren

schließen. Aber — wie bekannt — werden in dem mehr oder minder isodiametrischen Süßwassertricladen-Ovar zuerst die inneren Ovocyten reif, und dann schreitet die Reifung nach der Oberfläche fort ohne jede Regel, so daß Ovogonien sich zwischen den reifenden Ovocyten befinden. Wenn ich eine ovogoniale Herkunft der Nährzellen annehmen möchte, so hat das seinen Grund darin, daß es im Tierreich allgemein verbreitet ist, daß die Geschlechtszellen durch eine möglichst geringe Teilung zustande kommen, und dementsprechend die Nährzellen am häufigsten aus Ovogonien — bzw. aus Ovocyten — entstehen. Und wenn schon ein Teil der Keimzellen direkt zu Nährzellen heranwachsen würde, so müßten sich die übrigen Keimzellen viel häufiger teilen, bis die normale Eizellenzahl zustande käme.

Dotterzellen im Ovarium.

Außerhalb der Nährzellen, Ovogonien und Eizellen trifft man im Ovarium manchmal auch auf Dotterzellen. Böhmig (S. 457) findet ebenso Dotterzellen in sämtlichen von ihm untersuchten Ovarien von Meerestricladen, welche er für umgewandelte Eizellen hält. Auch Schleip (S. 360) berichtet von einem ähnlichen Fall bei *Planaria gonocephala*, und er leitet die betreffenden Dotterzellen von Stammzellen ab. In meiner ungarischen Arbeit war ich selbst geneigt, mich Böhmigs Auffassung anzuschließen. Ja, ich habe damals in den betreffenden Dotterzellen auch Spermien gefunden, und ich wollte bei dieser Gelegenheit die Aufmerksamkeit der späteren Forscher darauf hinlenken, zu untersuchen, ob sich nicht auch bei andern Arten in ovarialen Dotterzellen immer Spermien befinden. Ich meinte, man könne etwa daraus feststellen, daß die Umwandlung der Eizellen in Dotterzellen durch frühzeitig eingedrungene Spermatozoen hervorgerufen wird. Ich habe aber inzwischen meine Ansicht über die Eizellenumwandlung geändert, erstens, weil direkte Beobachtungen darüber fehlen, zweitens, weil es nicht ausgeschlossen wäre, daß eine solche Umwandlung auch an Nährzellen (ohne Spermatozoeneinwirkung) stattfinden könnte, und drittens ist es höchstwahrscheinlich, daß diese Dotterzellen sich gar nicht im Ovarium entwickelt haben, sondern erst bei der Eibildung aus der Tuba bei etwaiger unregelmäßiger Bewegung des Verschlußapparates des Ovariums in dasselbe eingeschoben wurden. Entscheidend ist für die letztere Annahme der Umstand, daß ich Dotterzellen im Ovarium nur bei solchen Tieren gefunden habe, welche mindestens schon ein Ei gelegt haben. Auch Schleip fand seine Dotterzellen in solchen Ovarien, welche Eizellen mit schon entwickelter 1. Richtungsspindel enthielten. In einem Falle habe ich Anfang März ein Tier eben im Stadium

der ersten Eibildung fixiert, und in dessen Ovarium Dotterzellen getroffen. Dieselben befanden sich teils schon innerhalb des Ovariums, teils waren sie zwischen den Verschlußzellen eingeklemmt. Es ist infolgedessen selbstverständlich, daß sich die eingedrungenen Dotterzellen stets unmittelbar an die Verschlußzellen anlegen. Dazu kommt noch, daß ich in den Dotterzellen, die aus den dem Ovarium zunächst liegenden Dotterstöcken stammen, oft Spermatozoen gefunden habe. Diese Dotterzellen kommen aber für eine Einwanderung in das Ovar zuerst in Betracht.

Es ist übrigens nicht anzunehmen, daß eine dadurch bedingte vorzeitige Befruchtung eine so tiefgehende Veränderung der Eizellen hervorrufen würde.

Ovogonien.

Nach Schleips Meinung sind die »Stammzellen« welche bei *Planaria gonocephala* das junge Ovarium zusammensetzen, als Ovogonien aufzufassen (S. 360). Ich möchte lieber den Ausdruck »Stammzelle« auf Zellen mit kleinerem Kern, als ihn die wirklichen Ovogonien haben, sagen wir, auf Urovogonienzellen, also auf Keimzellen (Fig. 54), beschränken und als Ovogonien nur solche Zellen bezeichnen, die einen größeren Kern (also die Zellen in Fig. 1—4 und 55) haben.

In der neueren Literatur liest man oft den Wunsch, daß bei ovogenetischen Studien die Ovogonienentwicklung mehr berücksichtigt werden möchte als es bisher geschah, da man dann für manche Erscheinungen, die sich in den Ovocyten äußern, eine Erklärung finden würde.

Für Ovogonienstudien sind aber die Tricladen-Ovarien gar nicht geeignet. Eine Ursache dafür ist unter vielen andern das schon erwähnte Fehlen von Wachstumszonen. Wollen wir also Urovogonienzellen untersuchen, so können wir sie nur dann sicher als solche erkennen, wenn wir für diesen Zweck ganz junge Tiere nehmen, nämlich solche, in welchen noch kein Oviductus entwickelt ist, und in deren Ovarium erst einige leptotäne Ovocyten zu finden sind. Wollen wir hingegen die ältesten Ovogonien untersuchen, so können wir dies ohne Irrtum nur in solchen Ovarien konstatieren, in welchen das Ovogonienmaterial durch Umwandlung in Ovocyten schon beinahe erschöpft ist. Wesentlich beim Aussuchen der verbindenden Reihenglieder zwischen den zwei erwähnten Endstadien wäre weiterhin die Größe des Kernes und des Zellkörpers. Aber weder der Kern noch der Zellkörper sind isodiametrisch, so daß die Zellen desselben Stadiums, in verschiedenen Richtungen geschnitten, sich verschieden groß zeigen können. Der Kern ist meistens elliptisch, der Zellkörper selbst in der Richtung des Kernes verlängert, aber von den Nachbarzellen sehr oft irgendwie

zusammengedrückt. Ebensowenig können wir eine Relation zwischen Kern und Protoplasma feststellen, da die Zellen ihr Protoplasma nicht frei um den Kern lagern können. Und ich muß noch dazu auch das bemerken, daß ich in der Größe der ältesten erwachsenen Ovogonien gleichalter Tiere auch individuelle Schwankungen bemerkt habe, was wir sofort verstehen können, wenn wir an die im Bindegewebe schmarotzenden, außerordentlich häufigen Protisten denken, welche je nach ihrer Anzahl die Nahrungszufuhr zu den Ovarien sehr wesentlich hemmen können. Am meisten aber fiel mir der Unterschied auf zwischen den erwachsenen Ovogonien des jungen Ovars männlicher geschlechtsreifer Tiere und denen weiblicher, geschlechtsreifer Tiere. Die Ovogonien des eiablegenden Tieres sind viel größer als die des jungen, was wir durch Vergleich der bei gleicher Vergrößerung gezeichneten Fig. 4 mit Fig. 1—3 und 5—6 sofort sehen können. Die Ursache dafür ist wieder darin zu suchen, daß das Nährmaterial des auch sonst körperlich im Wachsen begriffenen und reifenden männlichen Tieres in anderer Richtung sehr in Anspruch genommen wird, in dem weiblichen, reifen und schon körperlich erwachsenen Tiere aber hauptsächlich nur die Ernährung der reifen weiblichen Geschlechtsprodukte nötig ist.

Alle diese Verhältnisse habe ich nur deswegen angeführt, um darauf hinzuweisen, wie schwer, beinahe unmöglich es ist, Entwicklungsreihen von Ovogonien zusammenzustellen, bzw. mit welchem Mißtrauen wir jeden derartigen Versuch aufzunehmen haben.

Bevor ich zur Beschreibung eigener Beobachtungen schreite, muß ich mich zu einer Bemerkung Mattiesens äußern, welche mit den eben erwähnten nicht übereinstimmt. Mattiesen schreibt folgendes: »Das gesamte Ovarium schreitet . . . in seiner Reifung anfangs gleichmäßig vor« (S. 287). Dieser Bemerkung kann ich mich deswegen nicht anschließen, weil ich eben sehr frühzeitiges Auftreten einiger Ovocyten in jungen, eines Ausführungsganges noch völlig entbehrenden Ovarien gefunden habe. Die ersten Ovocyten differenzierten sich immer an der unteren Seite des Ovariums. Nachher erscheinen sie aber immer zerstreut, so daß — wie schon bekannt ist — kein bestimmtes Keimlager zu finden ist. Am Ende der Eiablage erschöpft sich das ganze Ovar auch bei *Dendrocoelum*, wie es Curtis (s. Mattiesen) an seinen Untersuchungsobjekten festgestellt hat.

Die allerjüngsten Ovogonien des *Dendrocoelum*, also die Urovogonien, sind, wie dies ganz allgemein in der Tierwelt der Fall ist, kleine längliche Zellen mit schmalem Zellkörper um den ovalen Kern. Wie bekannt, färbt sich der Zellkörper der jungen Ovogonien chromatisch mit den verschiedensten Färbemitteln. Mit Schultzeschem Osmiumhämatoxylin dagegen

färbt er sich blaß und erst in den erwachsenen Ovocyten stark. Der Kern enthält viel Chromatin in dichter Körnelung, und es sind Andeutungen von einigen Nucleolen zu sehen. Später sind immer mehrere Nucleolen vorhanden. An mit Sublimatlösung oder mit Zenkerscher Flüssigkeit fixierten Präparaten sind im Zellkörper nach Eisenhämatoxylin winzige schwarze Pünktchen sichtbar. Ob diese mit den großen Granula der Ovocyten identisch sind, das konnte ich nicht entscheiden, denn sie sind meiner Erfahrung nach außer mit Eisenhämatoxylin mit keiner Methode darstellbar, die betreffenden Granula der Ovocyten aber kann man mit den verschiedensten Chromatinfärbemitteln differenzieren.

In den Ovogonien sind mit Mitochondrienmethoden Mitochondrien nachweisbar. Diese sind kleine Pünktchen oder kurze gewundene Fädchen, welche in günstigen Fällen in Punktreihen auflösbar sind. Die Mitochondrien der Ovogonien sind gegenüber denen der jungen leptotänen und diplotänen Ovocyten dadurch charakterisiert, daß sie zuerst in verhältnismäßig geringer Zahl vorhanden sind. Außerdem sind sie viel kleiner und dünner als diejenigen der Ovocyten, und zugleich weniger stark färbbar. Bei den Teilungen bekommt jede Tochterzelle ungefähr die gleiche Menge von Mitochondrien.

Ein Kern mit feinkörnigem Chromatin tritt in Ovogonien erst auf, wenn die Zellen eine längere Ruheperiode hinter sich haben. Vollziehen sich die Teilungen jedoch in schnellerem Tempo, so bemerkt man kein körniges Chromatin, sondern nur ein fädiges Gerüst. In den Ovogonien sind Nucleolen immer zu finden, und zwar in wechselnder Zahl (3—5).

Die Teilungen der Ovogonien bieten mehr interessante Resultate als die Betrachtung der Zelle in ihrem Ruhestadium. Es kann keine Rede davon sein, daß wir feststellen können, wieviele Teilungen die Ovogonien durchmachen. Fälle, wie der in Fig. 11, könnten uns zeigen, daß die ältesten Ovogonien sich in schnellerem Tempo nacheinander zweimal teilen. Solche Bilder kommen jedoch selten vor. Teilungsfiguren findet man nicht oft, wie auch Schleip (S. 361) bezüglich der *Planaria gonocephala* bemerkt. Am meisten sind sie in den jungen wachsenden Ovarien der Tiere vom Monat August zu finden. Da das Ovarium seine definitive Größe schon im Oktober erreicht, sind von der Zeit an Teilungen sehr selten zu treffen. Erst mit Beginn der Eiablage, wenn der Raum im Ovarium für neue Zellen frei wird, fängt die Teilung der Ovogonien für kurze Zeit wieder an, bis die Reserve erschöpft ist.

So viele Teilungen habe ich selbst nicht gefunden, daß ich aus den Ovogonien hätte ersehen können, woher Spindelfasern, Centralkörper und seine Strahlung kommen. Die Centriolen, wie in Fig. 5—7 zu sehen ist,

sind ziemlich groß und manchmal längliche, beinahe stäbchenförmige, zuweilen auch rundliche, nicht scharf begrenzte (Fig. 5) Körper. Vom Centriol gehen eine stark centrierte Spindel und eine kleine Strahlung aus. Die Centriolen rücken sehr bald während der Metaphase unmittelbar an die Zelloberfläche (Fig. 5 und 6). Sie sind in der Telophase, wenn die zwei Tochterplatten mit den sich eng und kelchförmig zusammenschließenden Chromosomen an die Zelloberfläche drängen (Fig. 8), schon verschwunden. Während der Metakinesis treten zwischen den zwei Tochterplatten lange Verbindungsfasern auf (Fig. 8).

Genauer konnte ich hingegen das Verhalten des Chromatins während der Teilungen studieren. Das Spirem, sowohl das dünne, als das dicke und gespaltene, zeigt keine regelmäßige schematisch schöne Ausbildung, sondern wie Fig. 1 es zeigt, ein Durcheinander von Fäden. Die Fadenoberfläche ist nicht eben, sondern gezackt, manchmal mit kurzen Ausläufern versehen. Die Nucleolen nehmen an der Bildung des Spirems nicht teil und sie gehen, wie ich mich durch eingehendere Beobachtungen überzeugte, auch in die späteren chromatischen Figuren nicht ein. Es zeigt sich vielmehr (Fig. 2—4), daß sie bis zum letzten Moment im Kernraum beharren, und nach dem Verschwinden der Kernmembran, wie überhaupt eines abgegrenzten Kernraumes, in das Protoplasma übertreten. Vorausschickend will ich nur sagen, daß diese ausgetretenen Nucleolen zum Teil die Grundlage für die später noch näher zu beschreibenden chromidialen Granula bilden. Ob dieses Nucleolusaustreten auch bei den früheren Ovogonienteilungen geschieht, kann ich nicht sagen; ganz gewiß habe ich es nur bei den letzten Ovogonienteilungen wahrgenommen.

Die Chromosomen werden erst glatt, wenn sie in der Äquatorialebene aufgestellt sind. Früher, wie Fig. 4 zeigt, haben sie noch die schon im Spiremstadium bemerkbaren, unregelmäßigen Seitenränder. Die in der Äquatorialebene angeordneten Chromosomen haben keine bestimmte Form, und sind nicht streng schematisch nach der Spindelachse orientiert. Sie stehen auch nicht streng in einer Ebene, sondern gehen zuweilen übereinander hinweg (Fig. 5 und 7). Manchmal sind sie hufeisenförmig, meist nur einfach gebogen. Doch kommen auch wellige vor.

Interessant ist weiterhin bezüglich der letzten Teilung der ältesten Ovogonien, daß die Chromosomen, in der Äquatorialplatte aufgestellt, beinahe doppelt so lang sind wie die der jüngeren Ovogonien. Meines Wissens hat man derartige Erfahrungen bei den Ovogonienteilungen bisher nicht gemacht.

Ich will noch bemerken, daß ich im Gegensatz zu Mattiesen und Arnold (S. 438), die als normale Chromosomenzahl 16 angeben, immer

nur 14 gefunden habe. Fig. 4, aus einem Zupfpräparat, zeigt diese deutlich in der Zahl 14.

Die Metakinesis bietet keine besonderen Bilder. Interessant ist aber das Verhalten der Chromosomen in der Telophase. Diese rücken dabei ganz dicht an den Pol der Richtungsspindel bis zur Kernoberfläche; unterdessen wird einerseits das Centriol unsichtbar, anderseits schließen sich die Chromosomen ganz eng zusammen und bilden ein kelchartiges Gebilde, das mit seiner Basis an dem Teilungspol sitzt, so wie es in Fig. 8 zu sehen ist. Da man Teilungsfiguren am häufigsten in diesem Zustande findet, muß angenommen werden, daß dieses Stadium lange dauert. Die Chromosomen stehen aber in diesem Zustande nicht nur gedrängt, sondern sie sind zugleich paarweise aneinander gelegt, so dicht, daß die Paare lückenlos zusammengeklebt erscheinen. Den Ablauf des parallelen Zusammenlegens und des Zusammenhaftens konnte ich nicht verfolgen. Ich sehe mich zur Annahme dieses Umstandes nur dadurch gezwungen, daß ich nie über 14 Chromosomenenden zählen konnte. Und Beispiele habe ich für diesen Zustand ziemlich viele gefunden.

Die Ovocyten I. O.

Auch in der Entwicklung der Ovocyten von *Dendrocoelum l.* können wir wie bei andern Tieren zwei Perioden, die des ersten und die des zweiten Wachstums, unterscheiden. Die erste dauert bis zur Auflösung des diplotänen Buketts, von da ab folgt die zweite bis zu den Reifeteilungen.

Bezüglich des Kernes ist die erste Phase durch ein langes Bukettstadium, also durch die auf eine Kernseite orientierten leptotänen und später diplotänen (pachytänen) Chromosomenschleifen und den ebenso orientierten Nucleolus (nicht immer durch mehrere Nucleolen) und bezüglich des Zellkörpers durch plötzliche Vermehrung und Größenwachstum der Mitochondrien, weiterhin physiologisch durch Chromatinabgabe des Kernes an den Chromosomenenden in den Zellkörper hinaus charakterisiert.

Bezeichnend ist für die zweite Periode, daß im Kern immer nur ein großer Nucleolus vorkommt und daß die Chromatinfäden sich nie auflösen, sondern daß die Chromosomenpaare nach dem Bukett nur eine stellenweise Spaltung erleiden. Durch diese Spaltung bilden sie die Strepsinemafäden, welche direkt zu den Teilungschromosomen werden. Der Zellkörper ist während dieser Periode mit einem stäbchenförmigen Centriol, mit zugehöriger riesiger Strahlung und mit fädig verlängerten und nach dem Cytocentrum orientierten Mitochondrien und physiologisch durch enormes Protoplasmawachstum mit entsprechendem Kernwachstum und durch

autogene Vermehrung der Chromidialgranula charakterisiert. Als geformte Ablagerung treten in den Eizellen nur gewisse kleine Randkörnchen, nicht viel Glykogen und Spuren von fettartigen Gebilden auf.

Bevor ich auf die ausführliche Besprechung der beiden Wachstumsperioden komme, möchte ich zwei literarische Bemerkungen, insoweit sich diese auf *Dendrocoelum* beziehen können, berichtigen. Ich habe einmal keinen Grund, die Behauptung, welche Schleip (S. 361—362) bezüglich der *Planaria gonocephala* aufstellt, daß nämlich Ovogonien bzw. Stammzellen ohne Teilung direkt in Ovocyten sich umwandeln, auch für mein Tier anzunehmen. In jungen Ovarien, wo erst einige Ovocyten vorhanden sind, ist noch der Zahl nach verhältnismäßig so wenig Ovogonienmaterial, daß wir, wenn wir an die große Zahl der gesunden und an die nicht kleine Zahl der zugrunde gehenden Ovocyten denken, a priori eine rege Teilung der Ovogonien annehmen müssen.

Ebenso kann ich weiterhin die Meinung Mattiesens bezüglich *Dendrocoelum* nicht teilen, wenn er behauptet, daß, wenn das Ovarium ungefähr seine definitive Größe erreicht hat, die Reifeteilungen bei sämtlichen Eizellen gleichzeitig beginnen (S. 288), d. h. mit andern Worten, daß man dann nur Ovocyten, und zwar, wie er auf derselben Seite unten bemerkt, auch diese in gleichem Stadium in einem und demselben Ovarium findet. Im Gegenteil, man trifft zur Zeit des Anfangs der Eiablage auch noch Ovogonien und natürlich auch die sämtlichen Übergänge zwischen Ovogonium und erwachsener Eizelle.

Die erste Wachstumsperiode, leptotänes Bukett.

In der Anfangsperiode der Ovocytenentwicklung treten bei unserem Tier keine Ablagerungen in dem Protoplasma auf. Im Kern können wir mit Bestimmtheit einen scharfen Unterschied zwischen einem dünnfädigen, den normalen 14 Chromosomen entsprechenden leptotänen Stadium und einem dickfädigen, schon den reduzierten sieben Chromosomen entsprechenden diplotänen Stadium machen. Diese beiden erkennbaren Stadien sind zugleich mit Orientierung der Chromosomen, also mit einem Bukettzustand verbunden, und von einem unorientierten, sog. Spiremstadium kann schwerlich die Rede sein.

Zu den schwierigsten Aufgaben gehört es bei *Dendrocoelum*, den Verlauf der Kernausbildung in den jungen Ovocyten von den in der Telophase der letzten Ovogonienteilung kelchartig zusammengeschlossenen Chromosomen bis zum orientierten leptotänen Ovocytenkern zu verfolgen. Folgende zwei Möglichkeiten können wir für die Kernausbildung annehmen. 1. Am einfachsten könnte ein orientiertes Leptotän dadurch zustande

kommen, daß die Chromosomen die in der Fig. 8 angegebene Richtung beibehalten und während der Kernbläschenausbildung sich voneinander lostrennen, sich strecken, sich ein wenig auflockern und auf die gegenseitige Wand des Kernraumes zustreben. Ein Ruhekern könnte sich also dazwischen nicht ausbilden. Dabei drängt sich vor allem die Frage auf, ob durch die letzten Teilungsrichtungen der Orientierungspol der zwei jungen Ovocyten bestimmt ist oder nicht. Wir müssen die Frage bejahen, denn es ist eine regelmäßige Erscheinung, daß die Ovocyten, im Gegensatz zu den Ovogonien, heteropol sind, insofern, als der Kern mehr auf der einen und die überwiegende Protoplasmamasse mehr auf der andern Seite der Zelle liegt. Diese Heteropolarität entsteht aber schon durch die letzte Ovogonienteilung, indem die zwei Tochterplatten so weit als möglich auseinander rücken, und in der neuen Tochterzelle als Kerne diese excentrische Lage beibehalten, wodurch die beiden Zellen ihren Protoplasmateil der Mutteräquatorialplatte zugewandt haben. Weiterhin sind die Chromosomen des Bukettstadiums mit ihren Enden gewöhnlich nach der Seite gerichtet, wo sich die überwiegende Protoplasmamasse befindet, also wo früher die Teilungsebene war.

Die Reihenfolge der angenommenen Art und Weise der Kernausbildung aber konnte ich nicht feststellen.

Infolge dieser Kernausbildung müßten wir erwarten, daß die zwei jungen Schwesterovocyten ihre Chromosomen gegenseitig zu der früheren Teilungsebene richten. Man findet solche Bilder, aber nicht so oft, wie man erwarten sollte. Das findet seine Erklärung darin, daß die jungen Schwesterzellen von den sehr verschieden entwickelten Nachbarovocyten meist sehr weit verdrängt werden und sich den zufälligen Raumverhältnissen anpassen müssen. In einem Ovarium irgend eines Tieres, wo die Zellen sich zonenhaft entwickeln, also gegenseitig einem gleichen Druck unterworfen sind, können sie sich den vorhandenen Raum regelmäßig unter sich aufteilen; unter solchen Umständen können unregelmäßige Verschiebungen nicht vorkommen. Es wird keine Teilungsspindel einer Zelle gezwungen, sich so einzustellen, wie es meine Fig. 5 zeigt. Ich konnte Fälle beobachten, wo die Spindel geknickt war, und der eine Pol mit dem Spindelende während der Teilung in der Telophase beinahe um einen rechten Winkel von der Teilungsachse sich abbiegen mußte. Wenn also während der Teilungen schon solche Biegungen der Teilungsachse auftreten, dürfen wir nicht erwarten, daß die Teilungshälften nach beendigter Teilung sich noch immer in gegenseitig unveränderter Lage befinden, daß also die Chromosomen der zwei Schwesterzellen in dem Bukettstadium sich einander gegenüber aufstellen. Doch findet man solche Fälle bei sorgfältigem

Durchsuchen der Präparate relativ so häufig, daß man sie nicht als zufällige Bilder erklären kann.

2. Die zweite Möglichkeit wäre die Ausbildung eines Ruhekernes in der Ovocyte vor dem Bukettstadium, welche Arnold (S. 436) für *Dendrocoelum* und Schleip (S. 362) für *Planaria gonocephala* annehmen. Wenn ein solcher wirklich zustande kommt, so könnte das meiner Meinung nach in der Weise geschehen, daß aus den zusammenhaftenden Chromosomen der Ovogonientelophase sich zuerst ein kontinuierliches Spirem ausbildet, das in der umgekehrten Richtung, wie es vor der Teilung geschieht, zu dem von Arnold in Fig. 1 (Taf. XXII) und in Fig. 17 (Taf. XXIII) abgebildeten Ruhekern führen könnte. Um der Ausbildung des kontinuierlichen Spirems willen könnten wir annehmen, daß die Chromosomen in der Telophase der letzten Ovogonienteilung nicht paarweise aneinander gelegt sind, sondern die benachbarten Chromosomen mit ihren benachbarten Hälften aneinander geklebt sind, wodurch in der Kelchform ein kontinuierlicher, gezackter Ring zustande kommt. Das Spirem kann sich nun ausbilden, indem die Chromosomen sich voneinander trennen und nur an ihren Enden verklebt bleiben. — Ob nun alles dieser Annahme entsprechend geschieht, und ob im allgemeinen ein Ruhekern sich ausbildet, haben weder ich noch Arnold oder Schleip beobachtet.

Wenden wir uns nun näher dem von Arnold beschriebenen Ruhekern zu, um zu sehen, ob dieser Autor seine Annahme genügend begründet hat. Arnold gibt für seine Ovocytenruhekerne nur das einzige Charakteristikum an, daß sie keinen Nucleolus haben. (Nach Schleip kann ein Nucleolus im Ruhekern von *Planaria gonocephala* vorhanden oder nicht vorhanden sein.) Ich habe bei unserem Tier nach Kernen ohne Nucleolus umsonst gesucht. Schnitte von Kernen ohne solche findet man wohl, ich konnte aber in den benachbarten Schnitten der Schnittreihe den Nucleolus, ja meistens die Nucleolen immer feststellen. Ich habe immer erfahren, daß die Nucleolen sehr früh in dem sich ausbildenden Kern erscheinen und in einem sog. Ruhekern Nucleolen immer vorhanden sind.

Sehen wir dagegen weiter, was für Merkmale die jüngsten sicher erkennbaren Ovocyten haben.

Der erste Zustand, in welchem wir unzweifelhaft eine Ovocyte erkennen, ist in Fig. 9 abgebildet; es ist der Zustand der schwachen Orientierung oder die Ausbildung des leptotänen Buketts. Diese Figur bildet einen noch früheren Zustand, als die Fig. 21 (Taf. XXIII) bei Arnold, ab. Die jungen Ovocyten sind in diesem Zustand durch mehr gekörnelte als scharf fädige Schleifen (Chromosomen) charakterisiert. Die Schleifen bilden

nicht die schönen regelmäßigen Bogen späterer Stadien (wie solche Fig. 11 zeigt), sondern sie sind sehr unregelmäßig und verschiedentlich geschlängelt. Trotzdem sind sie mit ihren beiden Enden, die der Kernwand angenähert sind, orientiert. Sie füllen jetzt den ganzen Kernraum aus, obschon sie sich mehr nach der einen Seite konzentriert haben. Von Nucleolen findet man gewöhnlich einen, aber gar kein seltener Fall ist, daß zwei, drei (sogar in einem Falle fünf) zu sehen sind. Wichtig ist für uns, daß ein heteropoler, eiförmiger Nucleolus erst jetzt in der weiblichen Geschlechtszelle erscheint. Leider aber ist auch das keine unbedingte Regel, denn es kann der Nucleolus eiförmig sein und mit dem spitzeren Ende mit den Schleifen gemeinschaftlich gerichtet sein — wie z. B. in Fig. 10 —. Doch gibt es sehr oft auch kugelförmige und noch nicht orientierte Nucleolen.

Ein sehr wichtiges Merkmal für dieses schwach orientierte Leptotän ist, daß die Kernmembran erst jetzt sich auszubilden anfängt, und zwar der Heteropolarität der Zelle entsprechend, zuerst an der Seite, nach welcher die Chromosomenschleifen gerichtet sind. Von diesem Pol breitet sich die Kernmembranbildung nach dem andern aus.

Im Zellkörper sind jetzt nur einige, aber große chromatische Granula zu sehen. Die Mitochondrien machen eine auffallende Umwandlung gegenüber denjenigen der Ovogonien durch: sie werden auffallend dick und stäbchenartig, mit runden Enden (Fig. 10).

Nun beschreibt Arnold in seiner Arbeit auf den S. 436 und 437 (und in den Fig. 18, 19, 2, 3, 20 und 4, Taf. XXIII) ein Spiremstadium, welches dem eben besprochenen Stadium vorhergeht, das die Verbindung zwischen dem von Arnold angenommenen Ruhekern und dem Bukett darstellen soll. Er gibt aber keine Angaben dafür, wie man diese Spireme von den Vorbereitungsspiremen der Ovogonienteilungen unterscheiden kann. Ich finde nämlich keinen Unterschied zwischen den Figuren von Arnold und den Ovogonienspiremen. Wollen wir zwischen diesen beiden Spiremen einen Unterschied machen, so könnten wir die Kerngröße, die Nucleolen, die Kernmembran und die Mitochondrien als entscheidende Faktoren in Betracht ziehen. Auf die Kerngröße können wir aber nicht bauen, denn die jungen Ovocyten müßten als Ovogonientochterzellen anfänglich einen viel kleineren Kern haben als ihre Mutterzellen, die ältesten Ovogonien, hatten. Vor allem ist aber auch in jungen Ovocyten gleicher Stadien die Kerngröße ebenso variabel, wie ich es für Ovogonien gleichen Alters oben schon ausgeführt habe. Die Ovogonien haben mehrere Nucleolen, aber man findet auch in den jungen Bukettovocyten sehr oft mehrere. Hinsichtlich der Nucleolen — wie das aus Obigem folgt — ist manchmal ein

Unterschied vorhanden, nämlich der, daß die Ovocyten der ersten Wachstumsperiode meistens ovoide Nucleolen haben, die Ovogonien aber immer kugelige. Hätte also Arnold in seinen Ovocytenspiremen einen eiförmigen Nucleolus gefunden, dann hätte er schon eine Basis für seine Annahmen. In Spiremkernen habe ich selbst aber nach solchen Nucleolen vergeblich geforscht. — Fassen wir weiterhin die Kernmembran ins Auge! Wenn ich die ersten Spuren der Kernmembran erst im frühen leptotänen Bukett gesehen habe, dann dürfte Arnold in den vorhergehenden Stadien noch keine Membran sehen und zeichnen. Aber ich selbst habe um die von mir beobachteten Spiremkerne immer eine scharfe Membran gesehen; diese Zellen sind aber keine Ovocyten, sondern Ovogonien, und so muß man die noch beibehaltene Kernmembran für die des Ovogoniums halten, da wir keine Ursache haben, in den Ovocyten einen früheren Kern mit Membran und einen darauf folgenden membranlosen bzw. mit einer sich ausbildenden Membran anzunehmen. — Gegen die Annahme Arnolds spricht auch das Verhalten der Mitochondrien: wenn nämlich die besprochenen Spiremstadien als Ovocytenspireme zu bezeichnen wären, dann hätten wir zum mindesten schon eine Spur von jenem Größenwachstum und jener Vermehrung der Mitochondrien finden müssen, die man schon in den frühesten leptotänen Stadien (s. Fig. 10) so auffallend zu sehen bekommt. — Wir dürfen endlich auch das nicht außer acht lassen, daß Spirembilder auch dadurch vorgetäuscht werden können, wenn wir die schwach orientierten leptotänen Schleifen im Schnitt quer auf die Orientierungsrichtung und nicht in der Nähe des Orientierungspols treffen. So getroffen können nämlich die in dem Gesichtsfeld jetzt durcheinander laufenden sehr unregelmäßig geschlängelten, aneinander stoßenden Schleifen sehr leicht das Bild eines Spirems hervorrufen. Doch werden wir im nächsten Schnitt durch diesen Kern kein Spirem, sondern die abgeschnittenen Enden der Schleifen finden. Und wenn diese Präparate nach dem Mitochondrienverfahren hergestellt sind, müssen wir im Zellkörper ganz andere Mitochondrien finden, als in Ovogonienspiremen. Durch derartige Spirembilder könnten wir auch dann irregeführt werden, wenn wir bei irgend einer Tricladenform nach der Kerngröße einen Unterschied zwischen Ovogonien und jungen Ovocyten machen könnten.

Auch Schleip (S. 361, 362) beschreibt einen Ruhekern in den jungen Ovocyten der *Planaria gonocephala.* Dieser Kern ist auch dort mit gut unterscheidbarer Membran umgeben. Später soll aber diese Membran wegen der Einleitung der Orientierung nicht mehr erkennbar sein. Eine Angabe, die uns wieder erlaubt, auf Grund unserer bisherigen Erfahrungen darauf hinzuweisen, daß, wenn eine Membran vorhanden war, sie in dem

Verlauf des Zellwachstums nur auf Verdickung, auf besseres Erkennbarwerden hinführen kann, oder umgekehrt, eine nicht erkennbare Kernmembran ein allerjüngstes Stadium der Zelle anzeigt, und ein vorhergehendes Stadium mit Kernmembran unwahrscheinlich macht.

Aus den eben ausgeführten Gründen (obschon ich die Art und Weise der Ovocytenkernausbildung direkt nicht beobachten konnte), kann ich Arnolds Annahme, daß in *Dendrocoelum*-Ovocyten ein Ruhekern und ein Spiremstadium sich ausbilden, nicht teilen. Ich möchte vielmehr annehmen, daß die Ovogonienchromosomen ihre Individualität beibehalten, nach Streckung, Auflockerung und unregelmäßiger Schlängelung in den jungen Ovocyten in eine schwache Orientierung übergehen.

Die Orientierung der Chromosomenschleifen, die anfänglich nur insofern durchgeführt ist, als die Chromosomenenden nur an jener Hälfte der Kernwand, welche in die Richtung der größeren Protoplasmamenge fällt, zu finden sind, wird mehr und mehr durchgeführt (Fig. 10), so daß die Enden zuletzt beinahe auf einen Punkt centriert sind. Diese Centrierung der Orientierung ergreift allmählich auch den Nucleolus oder die Nucleolen — wenn es mehrere gibt. Im Zustand der schwachen Orientierung kann er, oder können sie überall Platz nehmen (Fig. 9), später rücken sie an die Chromosomenenden näher heran (Fig. 10) und endlich geraten sie gewöhnlich (aber nicht ausnahmsweise) in die Mitte der Chromosomenenden (Fig. 11). Parallel mit diesem Verlauf tritt zuerst noch ein weiteres Längenwachstum der Chromosomen auf und nachher, wie Arnold (S. 437) beschreibt, in Verbindung mit Zunahme der Kerngröße eine Verkürzung und zugleich eine Verdickung derselben, so daß die Schleifen nicht mehr imstande sind, den ganzen Kernraum auszufüllen. Diese Verkürzung faßt Arnold als Kondensation auf. Was wir uns wirklich anders nicht vorstellen können, wenn die Chromosomenschleifen aus reinem körnigen Chromatin bestehen. Wenn er aber (S. 436) für die Schleifen eine Liningrundsubstanz annimmt (was sonst derzeitig nicht nachzuweisen ist), die homogen, vielleicht fädig sein soll, dann können wir eine Kontraktion nicht ausschließen. — Je mehr die Schleifen centriert sind, desto weniger sind sie geschlängelt, und desto weniger laufen sie unregelmäßig durcheinander, sondern sie nehmen mehr und mehr die Gestalt eines einfachen oder doppelten gelegentlich leicht welligen Bogens an (Fig. 11). Ja, sie können manchmal in eine so schöne Ordnung kommen, daß wir, wenn auch mühsam, in Zupfpräparaten in günstigen Fällen mit Hilfe des Zeichenapparates die 14 separaten univalenten Chromosomenschleifen zählen oder mindestens feststellen können, daß ihre Zahl sieben bei weitem übersteigt.

Die leptotänen Chromosomenschleifen sind nicht homogen. Mit

Hämateinfärbungen, wie Apáthys Hämatein I. A. oder Delafields Hämatoxylin, weiter mit Methylgrün, Jodgrün, manchmal mit Safranin färben sie sich zwar homogen, aber scheinen knotig zu sein. Nach gut differenzierter Eisenhämatoxylinfärbung (je 1 Tag) (Sublimat, Zenkersche, hauptsächlich aber schwache Flemmingsche Lösung) oder nach der Bendaschen Mitochondrienmethode und ebenso mit Safranin nach Hermannscher Fixierung differenziert sich das Chromatin in den Schleifen in eine schwach gefärbte Grundsubstanz (nicht Linin) und in diese eingebettete Körnchen, in die sog. Chromiolen, welche schwarz, bzw. violett, bei Safranin rot sind. Diese Chromiolen (Fig. 10) sind in den Knotenpunkten eingebettet und voneinander ziemlich gleichmäßig entfernt. Ob wir diese Chromiolen als verdichtetes Chromatin ansehen müssen, das in den Schleifen gleichmäßig verteilt ist oder — wahrscheinlicher — für eine Chromatinmodifikation halten müssen, das läßt sich nicht entscheiden.

Schleip kann in *Planaria gonocephala* die Chromiolen — von ihm als Mikrosomen bezeichnet, womit man aber gewöhnlich Zellkörper- und nicht Kernbestandteile bezeichnet — nur in sehr frühen Stadien der Orientierung unterscheiden. Später sind dort die Schleifen glatt und die Chromiolen nicht erkennbar.

Ich möchte da schließlich noch bemerken, daß Schleip dieses oben beschriebene leptotäne Stadium des *Dendrocoelum* schon in seiner *Planaria*-Arbeit erwähnt auf S. 374.

Eine Liningrundsubstanz läßt sich in den Chromosomenschleifen auch in späteren Stadien nicht nachweisen.

Die Synapsis.

Es wurde viel darüber gestritten, ob die Synapsis im allgemeinen ein natürlicher Zustand, oder ein Artefakt sei. Nachdem sie in vielen Fällen unzweifelhaft beobachtet war und ebenso unzweifelhaft ihr Ausbleiben bei vielen Tieren festgestellt war, kann die Frage nur so gefaßt werden, ob sie bei diesem oder jenem Tier vorkommt oder nicht. Dabei will ich mit dem Begriff Synapsis nur das Übergangsstadium zwischen dem Leptoten und Diploten bezeichnen, wenn die Schleifen in einem Klumpen so zusammengeballt sind, daß man sie kaum erkennen kann; ich halte mich also fest an die originale Formulierung des Synapsisbegriffes, der bekanntlich von Moore (1905) festgelegt worden war.

Leider stehe ich mit meinem Vorgänger Mattiesen in Hinsicht des Auftretens der Synapsis bei *Dendrocoelum* im Gegensatz, denn während Mattiesen eine Synapsis beobachtet hat, muß ich mich ganz entschieden dafür aussprechen, daß in normalen Fällen keine Synapsis vorkommt.

Die Synapsis, die Arnold bei *Dendrocoelum* beschreibt, ist etwas anderes. Er versteht darunter die Verkürzung (Kondensation) und das Dickerwerden der Fäden, aber keine Zusammenballung derselben.

Wenn wir darüber ein Urteil fällen wollen, ob die Synapsis ein natürlicher Zustand oder ein Artefakt sei, dürfen wir nur solche Fixierungen und Behandlungsmethoden in Anspruch nehmen, durch welche die Kerngrundsubstanz (Linin) unbeschädigt beibehalten wird. Denn eine feine, fast homogene, oder fein netzartige oder alveolar-spongiose Kerngrundsubstanz ist immer ein Zeichen, daß die Chromosomenschleifen nicht geschrumpft, in ihrem natürlichen Zustande geblieben sind; eine gerüstartige, zerrissene Grundsubstanz dagegen kann nicht nur durch den direkten Einfluß der Fixierungsflüssigkeit zustande kommen, sondern das können auch die sich vom Kernraum zu einem Punkt zusammenziehenden Chromosomenschleifen verursachen. Eine tadellose Fixierung der Grundsubstanz aber gerade in den leptotänen Ovocyten gehört zu den schwierigsten Aufgaben. In dieser Hinsicht können bei *Dendrocoelum* nur die Osmiumgemische in Betracht kommen. Als das beste habe ich eine $^1/_2$%ige Osmiumlösung rein oder im Gemisch mit 2% Kaliumbichromicum und zur Färbung nachher unter anderem das O. Schultzesche Osmium-Hämatoxylinverfahren gefunden. In zweiter Reihe kommt in Betracht die schwache Flemmingsche Flüssigkeit, was auch von Arnold empfohlen wurde. Darnach ist am besten mit Eisenhämatoxylin oder mit Bendas Mitochondrienmethode zu färben. — Nach all diesen Verfahren konnte ich in normalen Zellen nie eine Zusammenballung der Chromosomen sehen, wohl aber ihre nicht durch die Fixierung verursachte, sondern physiologische Verkürzung. Damit will ich aber — wie gesagt — gar nicht bestreiten, daß nicht bei andern Tierformen eine echte Zusammenballung mit ununterscheidbaren Chromosomenschleifen als natürlicher Zustand auftritt. Mit Sublimat (7—10%) - Eisessig (1, 3 oder 5%), oder mit Alcohol absolutus aber, wodurch die Kerngrundsubstanz der jungen Ovocyten völlig vernichtet ist, kann man Synapsis sehr gut darstellen, aber mit allen Kennzeichen der Artefakte. Es gibt doch Flüssigkeiten, z. B. Zenkersche Lösung (kalt oder 50° C), die die Kerngrundsubstanz in den jungen Ovocyten nicht gut erhalten, nach welchen aber die Chromosomen in ihrem natürlichen, nicht zusammengeballten Zustand erhalten bleiben. Die Natürlichkeit des betreffenden Zustandes dürfen wir erst dann anerkennen, wenn wir uns an tadellosen Osmiumpräparaten orientiert haben.

Mattiesen war also, wie das auch schon Schleip (S. 374) bemerkt hat, entweder von schlechten Fixierungen oder von pathologischen Zuständen irregeführt, wenn er (S. 288) eine echte Synapsis beschreibt, wo

nach ihm die zu einem oder mehreren sehr langen Fäden vereinigten Chromatinkörnchen und -stäbchen eine Zeitlang einen kompakten Knäuel bilden (siehe auch Fig. 7—9, Taf. X). Im Gegenteil sieht man schon im Zustand der schwächsten Orientierung ganz deutlich, daß an der Kernmembran die Chromosomen abgeschnitten erscheinen. Mattiesen spricht also mit Unrecht auch von der Vereinigung des Kernchromatins »zu einem oder mehreren sehr langen Fäden«. Es scheint Mattiesen weiterhin sogar, »als ob der Nucleolus während der Synapsis verschwinde«. Ich habe nichts Dementsprechendes gefunden. Am entschiedensten muß ich mich aber gegen die Angabe Mattiesens (S. 289) aussprechen, wonach dieser Chromatinknäuel nach Lockerung »zu einem typischen Spiremstadium« überleiten soll. Wir können einerseits wegen der Orientierung (die Mattiesen nicht erwähnt), anderseits wegen der 14 separaten univalenten bzw. sieben bivalenten Chromosomenschleifen nicht von Spirem sprechen.

Man bekommt trotzdem manchmal synaptische Bilder, wo das ganze Chromatin an dem Orientierungspol zusammengeballt ist. Ich konnte aber immer erkennen, daß diese Zellen schon in Degeneration begriffen waren. Sie waren einmal kleiner als die andern leptotänen Ovocyten. Dann hatten sie im Verhältnis zu den andern ein äußerst dünnes, von Eisenhämatoxylin mehr färbbares und doch nicht so kompaktes Protoplasma, wie die gesunden. Auf ihren pathologischen Zustand hat vor allem der Umstand hingewiesen, daß sie den ihnen zur Verfügung stehenden Raum nicht mehr ausfüllen konnten, sondern, wie zusammengezogen, von der Umgebung abgetrennt waren. Es ist sehr wahrscheinlich, daß sie in der von ihnen abgegebenen Flüssigkeit gewissermaßen schweben.

Das Zustandekommen der Chromosomenpaare und das Stadium der Doppelchromosomen.

Schon aus dem oben Besprochenen erhellt, daß *Dendrocoelum* ein sehr günstiges Objekt zum Studium der paarweisen Aneinanderlegung der Chromosomen ist. Die Vorteile dieses Objektes stammen daher, daß vor allem die normale Chromosomenzahl nicht groß ist (14), dann zweitens, daß schon die leptotänen Bukettschleifen (die univalenten Chromosomen) voneinander stark unterscheidbar sind und drittens, daß die Paarung nicht während einer Synapsis (mit Zusammenballung der Chromosomen) stattfindet, sondern daß die Schleifen auch während der Paarung frei und in dem früheren Bukettzustande bleiben (Fig. 11, 23 *A*, 53). So sieht man außerordentlich klar, wie die Chromosomen der Länge nach aneinander liegen. Die Verkürzung und Verdichtung der früher unregelmäßig ge-

schlängelten Schleifen am Ende des leptotänen Stadiums zu einem beinahe regelmäßigen Bogen (Fig. 11) betrachte ich als Vorbereitung zu der paarweisen Aneinanderlegung. Die Bildung der Chromosomenpaare erfolgt nicht gleichzeitig; ebenso geschieht die Adhäsion selbst eines Paares nicht auf einmal der Länge nach. Und eben infolge dieser zwei Gründe bekommt man bei den ersten (Fig. 53) oder besonders bei den letzten Paaren (Fig. 23 *A*) ein schönes Bild der Längsadhäsion; man sieht so klar, daß zwischen den dicken Paaren ein zustandekommendes Paar (Fig. 23 *A*) mit zwei weiter auseinandergehenden univalenten Zweigen nur auf eine kurze Strecke verklebt ist. (Siehe dasselbe auch bei Schleip bezüglich der *Planaria gonocephala* S. 366.)

Gegen eine angebliche Endkonjugation spricht schon der Umstand, daß die bivalenten Chromosomen nicht nur nicht doppelt so lang sind wie die univalenten waren, sondern daß sie sogar kürzer sind wie die letzteren. Fig. 12 zeigt schon ein vorgerückteres diplotänes Bukett und doch sind die Chromosomenpaare nicht so lang, wie sie zuletzt im leptotänen Zustand zu sehen waren. Gegen eine Endkonjugation bei *Dendrocoelum* spricht weiter auch der schon von Schleip (S. 365—366) bei *Planaria gonocephala* wahrgenommene Umstand, daß zwischen den leptotänen und diplotänen Chromosomen kein Übergang wahrzunehmen ist, sondern die letzteren zwischen den ersteren plötzlich sprungweise erscheinen, bzw. daß die ersteren am Ende der Konjugation plötzlich verschwinden.

Eine andere Möglichkeit, wie die parallele Konjugation schließt schon auch der Umstand aus, daß die Konjuganten auch während der Paarung bogenförmig und mit beiden Enden der Kernwand in Richtung der Orientierung genähert sind.

Wie wir später noch sehen werden, tritt am Ende des Bukettstadiums wieder eine Spaltung an den Doppelchromosomen auf. Man hat nun versucht, die Konjugation als eine Täuschung zu bezeichnen, wozu man sich durch das Auftreten dieser späteren Spaltung für berechtigt hielt; man glaubte, die zur Aneinanderlegung sich nähernden Chromosomen als die nach der Spaltung sich voneinander entfernenden Spalthälften ansehen zu dürfen. Um bei meinen Beobachtungen derartige Auffassungen auszuschließen, habe ich in Fig. 23 *A b* die Größe eines Kernes aus demselben Schnitt, in welchem die Chromosomenpaare nach dem Bukett zu spalten begonnen haben, außen punktiert hingezeichnet, um zu zeigen, daß der Kern bis zur Spaltung an Größe ziemlich zugenommen hat. Außerdem haben die gespaltenen Chromosomen ein, wie auch aus dem Vergleich der nebeneinander stehenden Fig. 23 und 23 *A* zu ersehen ist, ganz anderes Aussehen wie die im Begriff der Konjugation stehenden. Die spalten-

den Chromosomen sind weiterhin (Fig. 23) beinahe doppelt so lang, wie die sich aneinanderlegenden[1]).

Außer der besprochenen Verkürzung geschieht sofort nach der Konjugation eine weitere Veränderung mit den Chromosomenhälften. Sie platten sich nämlich gegenseitig ab, so daß die Paare einen ungefähr quadratischen Querschnitt mit unscharfen Umrissen ergeben. Die parallele Adhäsion geht soweit, daß meist die auch durch Eisenhämatoxylin und durch Bendas Mitochondrienmethode unterscheidbaren Chromiolen in gegenüberliegende Stellung zueinander geraten (s. Fig. 19, 20, 22 *b*). Sonst muß die gegenseitige Lage der Chromiolen nicht unbedingt aus der Konjugation hervorgehen. Sie können sich vielleicht bewegen, und sich so gegenseitig selbständig anordnen. Doch kommen an ihnen auch Verschiebungen sehr oft vor (Fig. 19 u. 20), wobei sie dann nicht eine gegenüberliegende, sondern wechselnde Stellung annehmen. Die Chromiolen sind in den leptotänen Schleifen in die Mitte der Fäden eingebettet, sie rücken aber in den diplotänen ganz an die Oberfläche. Die Chromiolen sind anfänglich rund, kugelig und heben sich scharf ab, sie behalten aber nicht lange ihre Kugelform, sondern strecken sich in den abgeplatteten Hälften quer zur Längsrichtung der Schleifen. Deshalb sieht man einmal doppelt punktierte, ein andermal querlinierte Doppelchromosomen (Fig. 13, 16, 18, 19, 20), je nachdem, ob man sie in der Richtung des Zusammenklebens oder senkrecht hierzu im Gesichtsfeld zu sehen bekommt. Demnach konnte ich nicht entscheiden, ob zwischen den gegenseitigen Chromiolen auch Querbrücken ihrer Art auftreten, denn die so verbundenen Chromiolen der Schleifenpaare konnten den verlängerten der einen Schleifenhälfte gleichen. — Indessen kommt eine in der neueren Zeit oft beschriebene spirale Struktur der Schleifen nie zustande.

Wenn diese Chromiolen in Eisenhämatoxylinpräparaten und an meinen Zeichnungen nicht überall zu sehen sind, wenn also die Doppelchromosomen beinahe gleichmäßig gekörnelt erscheinen, ohne daß man die

---

[1]) Bis jetzt schien also ein zweifelsfreier, durch direkte Beobachtung gestützter Beweis der Chromosomenkonjugation bei *Planaria gonocephala* von Schleip und bei unserm Tiere von mir erbracht worden zu sein. Nach Fertigschreiben dieser Arbeit kam mir aber die neue Arbeit von Vejdovský aus dem Jahre 1912 in die Hände. Auch er hat bei *Diestramena* ([2], S. 95—96) die Konjugation direkt beobachtet. Er hebt die Günstigkeit dieses Objektes besonders hervor. Es ist hier die Konjugation nicht mit einem Bukettzustand verbunden, wie bei *Dendrocoelum*. Vejdovský hat hingegen wieder die meinen Beobachtungen entsprechenden Einzelheiten gefunden, so z. B. einerseits, daß bei den zur Konjugation bestimmten Paaren zuerst nur ein paralleler Verlauf auftritt, wobei die Windungen und Krümmungen der Fäden entsprechend sind und anderseits, daß die Annäherung von je zwei Fäden nicht auf einmal erfolgt.

Komponenten unterscheiden kann, so könnte man daraus schließen, daß die zwei Chromosomen sich untereinander vollständig gemischt haben, daß also echte Kopulation derselben stattgefunden hat. Dies entspräche dem wirklichen Pachytänstadium, und die Chromosomen demnach den Mixochromosomen. Diese Bilder lassen sich jedoch nur mit Vorsicht so erklären, denn sie können einfach auch durch ungenügende Differenzierung zustande kommen. Die Chromiolen kann man nämlich bei unserem Objekt nur bei fortwährender Kontrollierung gut differenzieren. Ich lasse also dahingestellt, ob ein echtes Pachynema zustande kommt oder nicht.

Die Doppelchromosomen haben einen sog. Haarbesatz. Es sind das feine Vorsätze an den Chromiolen, welche als eine Einrichtung angesehen wird, die zur Vergrößerung der Chromosomenoberfläche dienen soll, um dadurch einen wirksameren Stoffaustausch zwischen den Chromosomen und ihrer Umgebung zu ermöglichen. Es ist eine tadellose Fixierung nötig, um diese Gebilde nachweisen zu können. In Fig. 19 und 20, welche mit Zenkers Flüssigkeit fixierte Ovocyten darstellen, sieht man diese nur an manchen Stellen. Das beste Mittel ist zu ihrer Erhaltung die Mitochondrienmethode Bendas, oder die Eisenhämatoxylinbehandlung solcher Präparate nach Meves (Fig. 22 *a*).

Mattiesen erwähnt nichts von den beschriebenen Verhältnissen. Ebenso kommt nach ihm wie nach Arnold die reduzierte Zahl der Chromosomen nicht durch Konjugation der ursprünglichen univalenten Chromosomen zustande, sondern auf anderem Wege.

Schleip erzielte aber bei *Planaria gonocephala* dieselben Resultate. Auch er konnte in dem leptotänen Bukettstadium an der Kernmembran, ungefähr 16, wie abgeschnittene Schleifen unterscheiden und später ungefähr acht, wieder ebenso abgegrenzte separate Schleifenpaare wahrnehmen. Nachdem er auf Grund gewisser Erwägungen andere Möglichkeiten, wie die parallele Paarung der Länge nach, ausschließt, stützt er sich — wie ich es schon erwähnt habe — einmal darauf, daß er nie irgendwelche Zwischenstufen in der Dicke der Fäden gefunden habe, was für langsame Verdickung und spätere Spaltung der Schleifen zu sprechen scheine. Weiterhin bezieht er sich auf die Beobachtung, daß man manchmal auch dicke Schleifenschenkel finden könne, die sich an einer Stelle plötzlich in zwei dünnen Fäden fortsetzen (S. 366).

Arnold, der sich (S. 439—440) mit Schleips Resultaten befaßte, stimmt in seinen Angaben bezüglich *Dendrocoelum* mit Schleip und mit mir nicht überein. Ausgehend von seinem Spiremstadium, spricht er nicht von univalenten und bivalenten Chromosomen und von einem Bukettstadium, sondern von Spiremsegmenten der Synapsis. Er

zählt acht solcher Segmente. Ich konnte mich aber in seiner Schrift nicht davon überzeugen, ob er wirklich acht separate, voneinander losgelöste, meinen diplotänen Bukettschleifen entsprechende Segmente angenommen hat, oder nur acht vermeintliche Schleifen seines ununterbrochenen Spirems gezählt hat, wobei ihm vielleicht die Kernmembran die Grenze für die einzelnen Schleifen angegeben hat. Ich glaube, er hat wohl unser schönes Leptotänstadium mit der normalen Zahl der Chromosomen übersehen, und so für das Anfangsstadium seiner Synapsis die schon die reduzierte Zahl aufweisenden dicken Segmente angenommen, denn seine Fig. 1 (Taf. XXI), auf Grund welcher er sich gegen SCHLEIPS Beobachtung, daß nämlich zwischen den leptotänen und diplotänen Schleifen kein Übergang sei, wenden will, entspricht ganz und gar nicht unserem leptotänen Zustand. Wie gesagt, es ist nicht einmal feststehend, daß diese Figur eine Ovocyte darstellt. Er nimmt natürlich — ohne besondere Begründung — Stellung gegen die Längskonjugation. Nach ihm kommt der später rückgängig gewordene Doppelcharakter der Segmente durch Längsspaltung zustande. Wie wir es aber sehen werden, nach der später auftretenden Längsspaltung, verlieren die Fadenpaare nie ihren Doppelcharakter.

Es sollen im folgenden noch einige Bemerkungen auch bezüglich andrer Verhältnisse im Kern gemacht werden.

Während des diplotänen Bukettstadiums nimmt die Kerngröße, wie das auch ARNOLD (S. 438) bemerkt, so rasch zu, daß das normale Verhältnis zum Zellkörper rasch gestört erscheint. Die Kerngrundsubstanz (Linin) wird widerstandsfähiger, so daß sie außer mit Osmiumgemischen auch mit andern Reagentien gut konservierbar ist (Fig. 20). Auch die Kernmembran verdickt sich ein wenig.

Da man in jedem Ovarium viel diplotänes Bukett findet, ist anzunehmen, daß die Zellen lange (vielleicht mehrere Monate) in diesem Zustand auf ihr weiteres Schicksal warten. Das leptotäne Stadium aber und noch mehr die Konjugation spielen sich schnell ab, denn dieses Stadium findet man nicht häufig.

Mit den Chromosomenpaaren geschehen noch während des weiteren Verlaufs des Buketts zweierlei Veränderungen, einerseits eine Streckung in die Länge und anderseits eine Chromatinabgabe an beiden Enden.

Während der Streckung in die Länge stehen sie sehr oft in so schöner Ordnung nebeneinander (wie in Fig. 14, 15 zu sehen ist), daß ihre Siebenzahl ohne Mühe feststellbar ist. Aber manchmal sind sie so wirr durcheinanderliegend (Fig. 13, 16, 20), daß man sich unter ihnen kaum mit Hilfe eines Zeichenapparates auskennt. Ihre Länge kann schließlich beinahe doppelt so groß sein, wie sie anfänglich war.

Die Chromatinabgabe äußert sich darin, daß die Chromatinkörnchen an den Enden der Chromosomenpaare stärker angereichert erscheinen; sie können sich dort so ansammeln, daß das Ende ganz anschwillt (Fig. 16), oder aber sie stehen nach Art von Chromiolen (Fig. 20) hintereinander. Dicke Chromatinanhäufungen sind auch anderswo an den Schleifenpaaren bemerkbar, diese lösen sich aber von dort nie ab. Es ist wahrscheinlich, daß diese sich anhäufenden Chromatinpartikelchen die Chromiolen selbst sind, weil sie sich färberisch ähnlich wie letztere verhalten. Es ist jedoch nicht ausgeschlossen, daß selbst die chromatische Grundsubstanz der Schleifen sich in Körnchen anhäuft. (Es darf nicht vergessen werden, daß wir auch für die Chromiolen angenommen haben, daß sie einfach verdichtetes, gewöhnliches Chromatin sind, weil sie durch Nucleolus-Doppelfärbungen nicht hervortreten.) Das angesammelte Chromatin wandert in den Nucleolus hinein (Fig. 13, 16, 17, 19, 20), oder es bildet selbständig neue Nucleolen (Fig. 17, 19). Diese können entweder mit den alten zusammenschmelzen, oder noch an den Chromosomen liegend von diesen durch die Kernwand in das Protoplasma befördert werden (Fig. 12 u. 13). Es kann endlich auch das an den Chromosomenenden angereicherte Chromatin langsam durch die Kernwand hinaustreten (Fig. 18).

Was das Wachstum des Nucleolus und sein Verhältnis zu den Chromosomen betrifft, so möchte ich dasselbe im Zusammenhang mit den Vorgängen im Nucleolus während der zweiten Wachstumsperiode betrachten. Ebenso will ich mich mit der Chromatinabgabe in den Zellkörper im Zusammenhang mit der Chromidialfrage weiter unten eingehender beschäftigen.

Die cytoplasmatischen Erscheinungen sind während der ersten Wachstumsperiode nicht auffallend. Die einzige bemerkenswerte ist, wie ich schon erwähnt habe, die starke Vermehrung der Mitochondrien und ihr auffallendes Dickenwachstum gegenüber der früheren dünnen Fadenform. Entsprechend der Heteropolarität der Zelle erscheint die Mitochondrienmenge an der Seite, nach welcher die Schleifen gerichtet sind, wo sich zugleich auch die größere Protoplasmamasse befindet (Fig. 9, 10). Die Mitochondrien liegen richtungslos durcheinander. Einige sitzen der Kernmembran senkrecht auf oder stehen in beliebigem Winkel dazu. Andere sind an die Kernmembran parallel angeschmiegt, und manchmal folgt von den letzteren eine den andern so dicht nach, daß sie auf lange Strecken um den Kern einen Saum bilden, welchen man leicht für eine dicke Kernmembran halten könnte, da letztere mit Benda-Färbung nur unscharf hervortritt.

Ich habe schon mehrmals erwähnt, daß die größte Protoplasmamasse sich dort befindet, wohin die Chromosomen gerichtet sind. Man findet aber nicht selten Ausnahmen von dieser Regel, wie das auch Fig. 14 zeigt.

Es ist aber sofort auch an dieser Figur wie immer in den mikroskopischen Bildern zu erkennen, daß es sich hier um eine sekundäre Erscheinung handelt, hervorgerufen durch den Druck der enorm wachsenden Nachbarzellen. In Fig. 14 sehen wir die Druckleistung von zwei Nachbarzellen.

Die chromatischen Granula des Zellkörpers, für welche ich einerseits chromosomale, anderseits nucleolare Herkunft festgestellt habe, sind noch immer in kleiner Zahl vorhanden. Sie sind jetzt noch groß und fangen erst an sich zu vermehren, dadurch, daß sie kleinere Partikelchen von sich abschnüren. Sie befinden sich hauptsächlich gemeinschaftlich mit den Mitonchondrien in dem Teile, nach welchem die Chromosomen gerichtet sind, wie das auch Schleip an *Planaria gonocephala* (S. 364) bemerkt.

Von dem Nachweis eines Centriols wegen Mangels einer Strahlung kann im Bukettstadium kaum die Rede sein.

Zweite Wachstumsperiode.

Diese Periode ist sehr gut unterscheidbar von der ersten an den Umwandlungen, welche sich im Kern abspielen, sowie durch neue cytoplasmatische Umgestaltungen.

Seitens des Kernes wird diese Periode eingeleitet durch die Auflösung der Orientierung der Chromosomenpaare und des Nucleolus und zugleich durch die Spaltung, also durch das Zustandekommen des strepsinemen Stadiums, in dem die Chromosomenhälften an den Spaltungsstellen sich voneinander entfernen. Die ganze Periode ist vor allem dadurch gekennzeichnet, daß das Chromatin die gebundene Faserform nie aufgibt, die Chromosomenindividualität wird also zweifellos bewahrt.

Seitens des Zellkörpers äußert sich diese Phase zuerst durch Sichtbarwerden des Centriols nach Auftreten seiner Strahlung und durch Erscheinen gewisser, später an die Zelloberfläche wandernder Randkörnchen.

Kern.

Das strepsineme Stadium des Kernes.

Die erwähnten zweierlei Erscheinungen im Kern, Auflösung des Buketts und Spaltung der Doppelchromosomen, gehen Hand in Hand. Manchmal verlieren die Chromosomenpaare zunächst ihren gefesselten Zustand und dann erst spalten sie sich (Fig. 23), oder sie fangen schon im Bukettstadium an sich zu spalten (Fig. 20). Während der Spaltung liegen sie im Kernraum regellos durcheinander. Die Spaltung fängt, wie das in Fig. 23 zu sehen ist, in gleicher Zeit an mehreren Stellen an. Sie wird sehr verschieden durchgeführt, d. h. das Resultat der Spaltung, die Strepsi-

nemafäden sind in der *Dendrocoelum*-Eizelle sehr verschieden (Fig. 24); verschieden selbst in einer Zelle. Geht die Spaltung ganz den Fäden entlang, verschont aber die beiden Enden, so entsteht ein ringförmiges Fadenpaar. Der Ring kann geschlossen (*a*) oder, wenn auch die Enden der Doppelchromosomen gespalten sind, mit einem bzw. zwei Paar offenen Schenkeln (*b*, *c*) versehen sein; diese Erscheinung hat auch Mattiesen beobachtet (S. 290, Fig. 11—16). Wenn die Paare nur in der Mitte verbunden bleiben, entsteht eine Kreuzform (*d*), wenn dieses Verbindungsstück länger ist und die Zweige auf dem Verbindungsstück senkrecht auseinandergehen, kommt eine **H**-Form (*e*) zustande. Auch kann der Faden nur an einer Stelle gespalten sein; dann erhält man einen Ring mit einem Stiel, endlich Ringketten durch mehrstellige Spaltung. Achtformen (*g*; *h*), oder Ringketten können aber auch dadurch zustande kommen, daß ein Ring sich windet (*i*, *j*) oder seine Schenkel (*k*) bzw. die Zweige eines Kreuzes sich übereinanderschlagen (wie es in *l* angefangen ist).

Die Strepsinemaformen der Fig. 24 sind natürlich bei der Entstehung nicht so kurz, wie in der Abbildung; ich habe diese späteren Zustände nur gewählt, weil sie leichter zu finden und leichter zu zeichnen sind.

Diese gespaltenen Fäden sind in ihrer Ring- oder Achtform manchen Tetraden sehr ähnlich; man erkennt in ihnen aber immer nur zwei Chromosomen, auch in ihrem verkürzten Zustand, wenn sie sich bei der ersten Reifeteilung in der Äquatorialebene schon angeordnet haben. Man kann sie deshalb nicht Tetraden nennen, sondern muß sie als Dyaden bezeichnen.

Bekanntlich geht bei vielen Tieren das Chromatin am Ende des Buketts bzw. am Anfange des Strepsitens aus der gebundenen Fadenform manchmal vollständig in einen feingekörnelten Zustand über, das Chromatin wird, wie man sagt, aktiviert, um an der Arbeit lebhaft teilnehmen zu können, was immer zu einem enormen Wachstum der Zelle führt. Es gibt aber unter jenen Tieren, welche durch kleine Eizellen ausgezeichnet sind, manche Arten, bei denen die Fadenpaare nicht verschwinden, das Chromatin wird also, wie es scheint, nicht aktiviert. So ist es z. B. bei vielen Trematoden. Auch die *Dendrocoelum*-Eizelle müssen wir in diese Kategorie einreihen, weil auch da die Chromosomenpaare beibehalten werden und während des Eiwachstums nie verschwinden, obschon die Eizelle nicht ganz klein bleibt. Trotzdem müssen wir von einem aktivierten Zustand der Strepsinemafäden sprechen. Daß das Chromatin hier tatsächlich aktiviert ist, gibt sich darin kund, daß diese ring-, acht-, kreuz- und andersförmigen Chromosomenpaare sich sehr in die Länge strecken, dabei sich auflockern und sehr körnig werden, ohne ihre Fadenform zu verlieren und endlich, an der Kernoberfläche gleichmäßig verteilt, sich ganz eng an die

Kernmembran anschmiegen. Diese Anordnung der Fäden unter der Kernmembran hat auch MATTIESEN (S. 289) an unserem Tier und an andern Planarien und SCHLEIP (S. 368) an *Planaria gonocephala* beobachtet. Für aktiviert halte ich diesen Zustand wegen der hochgradigen Auflockerung der Fäden, und deswegen, weil in lebhaft funktionierenden Zellen, auch in Eizellen verschiedenster Tiere, die Chromatinelemente im Kernraum sich mehr peripherisch anzuordnen bestrebt sind. Ich erinnere nur an die Randnucleolen der Eizellen. Die langgestreckten, zerspaltenen Fadenpaare laufen, bevor sie diese periphere Lagerung erhalten, so kreuz und quer und so verwickelt in dem Kernraum hin und her, daß man sich kaum unter ihnen zurechtfindet, und manchmal glaubt man, es komme ein einheitliches Fadennetz zustande (Fig. 26). In günstigen Fällen kann man sich indessen doch ganz bestimmt davon überzeugen, daß die einzelnen Paare ganz unabhängig voneinander sind. Ihre Oberfläche bleibt nicht glatt, sondern wird eckig, erhält Fortsätze, und die Doppelfäden sind selbst hochgradig gekörnelt.

Bei solchen Tieren, wo das Schleifenchromatin nach dem Bukettstadium in dem Kernraum staubförmig verteilt wird, erfolgt manchmal, wie JÖRGENSEN berichtet ([2.] S. 501—503, 599—606), zugleich eine Substanzveränderung, indem (nach JÖRGENSEN) das frühere Basichromatin verschwindet (es wird aufgelöst) und statt dessen ein Oxychromatin (mit sauren Stoffen färbbares) auftritt. Bei *Dendrocoelum* ist das Chromatin schon früherer Stadien (Bukett) nicht »basisch«. Es färbt sich nämlich in den Doppelfärbungen immer mit den sauren Farbstoffen (Lichtgrün, Methylgrün). Nach Osmiumfixierung sind die Chromiolen zwar von dem basischen Safranin gefärbt, aber die andern Doppelfärbungen differenzieren die Chromiolen nicht, und so können wir diese nicht für entschieden basisches Chromatin halten. Doch wird diesen Chromiolen dasselbe Schicksal zuteil werden, wie dem basischen Chromatin JÖRGENSENS, da sie langsam verloren gehen, so daß in den späteren Stadien der verkürzten Strepsinemen (Fig. 22*a*) kaum noch einige von ihnen mit Mitochondrienverfahren oder mit Safranin nachweisbar sind. Ob sich die Chromiolen innerhalb der Fäden auflösen, oder in die Kerngrundsubstanz hineingelangen oder ob sie durch die Kernmembran hinaus in den Zellkörper, oder an Fadenenden in den Nucleolus wandern, das läßt sich wegen der Kleinheit dieser Gebilde nicht entscheiden. Da eine Chromatinabgabe seitens der Strepsinemafäden an den Nucleolus auch während der zweiten Wachstumsperiode stattfindet, und da ich manchmal auch außerhalb der Tetraden in der Kerngrundsubstanz einige Chromatinkörnchen gesehen habe, ist es am wahrscheinlichsten, daß die Chromiolen in diesen zwei Richtungen verschwinden.

So sicher es ist, daß Chromatinmaterial in den Nucleolus hineinströmt, so ist es recht fraglich, ob ein Teil der Körnchen im Kernraum zerstreut wird. An Sublimat-Eisessigpräparaten habe ich nicht selten nach Eisenhämatoxylinfärbung eine feine Körnelung der Kernoberfläche gesehen, leider gibt aber diese Methode keine einwandfreie Fixierung der Kerngrundsubstanz, so daß die Körnelung auch ein Artefakt sein kann. Bei gewisser Art pathologischer Veränderungen kommt aber eine sehr hochgradige Zerstäubung des Fadenchromatins zustande. Allerdings bestärkt uns dieses Verschwinden der Chromiolen nicht in der Meinung, daß sie wichtige Teile des sog. Erbchromatins sind, eine Annahme, zu der man sehr geneigt ist, wenn man ihre gesetzmäßige Anordnung in diplotänen Chromosomen (Fig. 22 *b*) in Betracht zieht.

Nach einer näher nicht bestimmbaren Zeit verlassen die strepsinemen Fadenpaare, obschon nicht immer und nicht jedes, ihre oberflächliche Lage und fangen an sich zu verkürzen; sie werden zugleich dicker und glatter. Fig. 27 zeigt ein Übergangsstadium zu den in Fig. 41, 51, 25 abgebildeten. Während dieses Prozesses konnte ich nie eine Chromatinaufnahme seitens dieser Gebilde bemerken.

Ich muß noch näher auf die Darstellung meiner Vorgänger, Arnold und Mattiesen, bezüglich der Umwandlung des Chromatins während der zweiten Wachstumsperiode eingehen; besonders möchte ich auch hier noch das nachholen, was ich literarisches bei Auseinandersetzung der Erscheinungen in der ersten Wachstumsperiode zu erwähnen versäumt habe.

Nachdem Mattiesen den richtigen Weg in der Untersuchung durch sein Spiremstadium (an der Stelle von leptotänem und diplotänem Bukett mit separaten 14 univalenten bzw. sieben bivalenten Chromosomen) verfehlt hat, ist er sozusagen gezwungen, bei der Erläuterung der Chromatinbilder während der zweiten Wachstumsperiode weitere Irrwege zu gehen (S. 289—293, 298—299). Er spricht von Fadenstücken jenes Spirems (S. 289) oder nur von einem zusammenhängenden Spiremfaden. Aus diesen Fadenstücken bzw. von dem ganzen Faden sollen durch eine in ziemlich regelmäßigen Abständen unterbrochene Spaltung Ketten — von jedem Stück eine — entstehen. Die einzelnen Kettenglieder als Ringe sollen beim *Dendrocoelum* länger in Zusammenhang bleiben, während sie bei *Planaria* sich in größeren oder kleineren Gruppen voneinander ablösen sollen. Ein weiterer Irrtum Mattiesens ist, daß er die gespaltenen Fadenstücke nicht als Doppeleinheiten (als Chromosomenpaare), sondern diese als nur vorübergehende Zusammenhänge der eigentlichen Einheiten, der einzelnen Kettenringe auffaßt, und von jedem einzelnen Ring Vierergruppen (aus vier Körnchen) entstehen läßt. Auch da war er, wie wir noch

später beim Centrosoma und der Strahlung sehen werden, von pathologisch veränderten Zellen irregeführt, in denen an den Strepsinemafäden solche gekörnelte Kondensationen, wie sie an MATTIESENS Fig. 16*c* und 17 zu sehen sind, sehr oft auftreten. Diese Vierergruppen will er aber nicht ohne weiteres mit gewöhnlichen Tetraden identifizieren, »da ihre Zahl in diesem Falle zu groß wäre« (S. 290). Er fand nämlich die Zahl der Ringe schwankend zwischen 15 und 20. Einen weiteren Fehler macht MATTIESEN damit, daß er aus allen diesen Vierergruppen zusammen vier kompakte gedrungene Chromosomen entstehen läßt, aus denen dann durch Querteilung die — gemäß MATTIESEN — acht Chromosomen der Reifeteilung entstehen müssen. Ich muß dazu nachdrücklich betonen, daß ich nie weniger als sieben bivalente Strepsinemen gefunden habe, und daß mir nie Bilder vorkamen, die auf eine »Reduktion der Zahl und augenscheinlich auch der Masse dieser scheinbar selbständigen Chromatinelemente« — das heißt bei mir: der gespaltenen Doppelfäden — hindeuteten. Ich kann nur eine einzige Erklärung für MATTIESENS Irrtum finden und das ist die, daß seine Fig. 17, 21, 22, worauf er seine Meinung gründet, lauter pathologisch veränderte Zellen wiedergeben; und in solchen Zellen konnte ich einerseits beobachten, daß die Chromosomenpaare vor der Teilung ihre besondere Form verlieren und sehr chromosomenähnlich werden, und anderseits, daß wenn in solchen Zellen drei Centriolen mit den zugehörigen Strahlungen auftreten, dann vier tetradenähnliche Chromosomenpaare zwischen zwei Centriolen und drei in der Nähe des dritten sich anordnen. Er müßte also diese drei ganz abseits liegenden Tetraden vermißt haben. — Ich muß sodann, weil MATTIESEN die einzelnen Ringe der Ketten für sehr selbständige Teile hält, hier nochmals bemerken, daß, wie wir schon gesehen haben, aus einem Doppelchromosom des Bukettstadiums ebenso gut ein Ring wie mehrere, untereinander zusammenhängende entstehen können.

Auch ARNOLD geht, wie MATTIESEN von einem Spiremstadium aus. Dieser Spiremzustand verschwindet aber nach ARNOLD während des Wachstums nie, und wenn er später nicht gut darstellbar ist, so ist das nach seiner Ansicht die Folge davon, daß das Chromatin, welches die Spiremfäden sichtbar macht, in der Liningrundlage segmentweise nach gewissen Mittelpunkten zusammengeflossen ist, und so die Segmentenden unsichtbar läßt. Während des Bukettstadiums unterscheidet er keine Chromosomen: univalente oder bivalente, sondern er spricht nur von Spiremsegmenten. An einer Stelle sagt er indessen doch, daß während der Synapsis (das entspricht unserem diplotänen Bukett) acht separate Segmente unterscheidbar sind (S. 439). Er läßt im Gegensatz zu SCHLEIP die diplotänen Segmente nicht durch Konjugation, sondern durch Spaltung

zustande kommen (S. 438—439). Er stellt die Beobachtung Schleips, daß zwischen den leptotänen und diplotänen Segmenten keine Übergänge vorhanden sind und daß die letzteren aus den ersten durch paarweise parallele Konjugation hervorgehen, in Abrede und glaubt die von Schleip vermißten Übergänge zwischen dünnen und dicken Fäden gefunden zu haben. Ich muß mich, wie schon erörtert wurde, an Schleip anschließen, da ich selbst keine Übergänge zwischen den Fäden, vielmehr öfters die Konjugation der dünnen Fäden beobachtet habe. — Arnold erwähnt weiterhin gar nicht, daß seine Spiremsegmente nach dem Bukettstadium sich spalten und sich in die erwähnten Strepsinemen umwandeln, wie wir das gesehen haben. Hätte er Bilder von dem Anfang dieses Spaltungsstadiums gesehen, wo die von dem Orientierungspol auseinandergegangenen Chromosomenpaare beinahe gerade durch den Kernraum in jeder Richtung laufen und ihre gut bemerkbaren Enden fern voneinander liegen, wie das auch meine Fig. 23, wo die drei Chromosomenpaare in ihrer natürlichen Lage sind, zeigt, dann würde er wohl solche Ansichten über den Spiremfaden und die Spiremsegmente nicht geäußert haben. Denn in diesem Zustande stehen die sieben separaten Chromosomenpaare so unabhängig und so getrennt voneinander, daß von einem Spirem keine Rede sein kann. Damit haben wir von vornherein auf die Unrichtigkeit der weiteren Folgerungen Arnolds hingewiesen, nach welchen die in der späteren zweiten Wachstumsperiode bemerkbaren kurzen Strepsinemaformen dadurch entstehen sollen, daß das Chromatin die Enden der einzelnen Spiremsegmente langsam verläßt, und näher zu der Mitte rückt (S. 440). Da diese Hinströmung zu der Mitte langsam und graduell geschehen soll, muß man nach Arnold diese langsame Hinströmung an den von ihm für Schleifengrundlage angenommenen Lininbändern in der graduellen Verblassung derselben erkennen. Dazu sind aber nach Arnold Eisenhämatoxylinpräparate nicht geeignet, da diese die Kerngrundsubstanz und so die Lininanlagen der Spiremsegmente nicht färben. Er empfiehlt dafür eine modifizierte Flemmingsche Dreifachfärbung, statt Gentianaviolett mit Methylenblau, womit man starke Lininfärbung bekommt. Ich habe an mit Flemmings schwacher Lösung und mit Hermannscher Flüssigkeit fixiertem Material sowohl dieses wie auch das durch Winiwarter modifizierte Flemmingsche Verfahren (letzteres siehe von Meves referiert in Enz. d. mikr. Techn. 1910. S. 475) mehrfach ausprobiert, und ich komme zu der Überzeugung, daß Arnold mit seinen blassen Lininfortsätzen der Chromosomen dadurch irregeführt war, daß die Kerngrundsubstanz als äußerst schwer erhaltbar bei der Behandlung sich zu den resistenteren Schleifen hinschlägt, und dickere Stränge von dieser in die Fortsätze der Fäden

fallen, wodurch dann morphologische Fortsätze vorgetäuscht werden. — Ich konnte an den Chromosomenpaaren im Anfange der zweiten Wachstumsperiode keine andern Veränderungen beobachten, als Spaltung, Verlängerung, Dünner- und Lockerwerden verbunden mit einer oberflächlichen Lage unter der Kernmembran, später am Ende dieser Wachstumsperiode Verkürzung und Dickerwerden verbunden mit Verlassen der oberflächlichen Lage, und es ist mir viel lieber, alle diese Zustände im ungefärbten Kernraum an einem Hämatein I. A.-Präparat beobachten zu können, wo alles viel schärfer hervortritt und auch eine Wanderung des Chromatins in den Fäden gar nicht übersehen werden könnte, als an den Flemming-Präparaten, wo wegen starker Kerngrundfärbung, aber nicht entsprechend starker Chromatinfärbung keine elektiven Bilder zur Verfügung stehen.

Die Kerngrundsubstanz. Eine gute Fixierung der Kerngrundsubstanz ist mit Osmiumgemischen (möglichst ohne Eisessig) zu erreichen, diese erhalten aber den Kern in der zweiten Wachstumsperiode nicht tadellos, denn die Kernmembran ist nicht prall, sondern wellig. Während also für die Kerne der ersten Wachstumsperiode Osmiumfixierungen (Flemmingsche, oder Osmium-Kalibichromicum) unvermeidbar sind, sind diese für die zweite Periode durch Zenkersche Flüssigkeit (40—50° C) leicht zu ersetzen. Bei guter Behandlung erscheint die Kerngrundsubstanz beinahe homogen, fein spongiös. Nach gewöhnlichen Fixierungen ist sie im Bukettstadium fast vernichtet oder nur gerüstartig grobspongiös (Fig. 20) erhalten. Sie hat eine andere Färbungsfähigkeit als der Zellkörper. Nach Schultzes Osmiumhämatoxylin ist sie im Bukettstadium beinahe so stark gefärbt wie der Zellkörper, in erwachsenen Zellen aber wird letzterer noch bei dieser Färbung immer stark grau, die Kerngrundsubstanz jedoch bleibt hellgrau. Nach Zenkerscher Flüssigkeit habe ich folgende färberische Verhältnisse zwischen Kerngrundsubstanz und Zellkörper festgestellt: Boraxcarmin-Bleu de Lyon: blau bzw. rot; Boraxcarmin-Methylgrün: mehr rot bzw. violett; Fuchsin-Jodgrün hell bzw. rot; Safranin-Lichtgrün: grün bzw. rot; Flemmings Dreifachfärbung: violett-bräunlich.

Nucleolusfrage.

Der Nucleolus der Ovocyten ist hier größer als der der Ovogonien. Während er manchmal in der ersten Wachstumsperiode in Mehrzahl vorkommt, findet man in der zweiten immer nur einen einzigen. In dem Bukettstadium zeigt er die gleiche Orientierung wie die Bukettfäden (Fig. 11, 17, 19, 20); er ist heteropol eiförmig, wobei die Enden in der Orientierungslinie liegen. Nach dem Bukett ist er aber immer kugel-

förmig, wenn er nicht, an die Kernmembran angeheftet, die Form einer Halbkugel annimmt. Im Bukettstadium ist er in vivo und auch mit Eisenhämatoxylin homogen gefärbt, während der zweiten Wachstumsperiode erscheint er in vivo als ein dickwandiges Bläschen oder vacuolisiert. Warme Fixierungsflüssigkeiten vermehren die Vacuolen.

Unter den Ansichten der Forscher herrschen zwei Richtungen hinsichtlich des Verhältnisses zwischen Nucleolus und Chromosomen während der Wachstumsperiode. Nach der einen soll der eigentliche Erbträger der Nucleolus sein, da nach ihr das während der Wachstumsperiode aufgelöste Chromosomenmaterial verschwindet und die neuen Chromosomen der Reifeteilung sollen dann durch die Nucleolarsubstanz geliefert werden. Nach der andern Ansicht soll gerade umgekehrt die Nucleolarsubstanz von Chromosomen abstammen. Außer diesen beiden Richtungen existiert noch eine dritte, allerdings von einer geringen Anzahl von Forschern vertretene, die glauben, daß Nucleolus und Chromosomensubstanz überhaupt nichts miteinander zu tun haben.

Die erste, schon aus theoretischen Gründen sehr zweifelhafte Annahme ist für *Dendrocoelum* schon a priori ausgeschlossen, da die Chromosomen in den Ovocyten als selbständige Gebilde existieren, eine Auflösung derselben nie zustande kommt. Gegen die Unabhängigkeit der zweierlei Gebilde spricht auch schon jener Umstand, daß man einen freien, mit den Chromosomen nicht zusammengeklebten Nucleolus sehr selten findet und ein solcher in allerjüngsten Ovocyten frei im Kernraum nie zu sehen ist. Und daß in diesem organischen Zusammenhange der Nucleolus Substanzen für die Chromosomen liefert, ist deswegen ausgeschlossen, weil der Nucleolus, der anfänglich sehr klein ist, während der beiden Wachstumsperioden fortwährend zunimmt, also selbst Substanzen braucht. Und daß er weiter die zu seinem Wachstum nötigen Substanzen nicht auf eigene Kosten herstellt, sondern diese von Chromosomen bekommt, dafür habe ich sowohl morphologische als auch mikrochemische Beweise.

Morphologisch beweisend ist vor allem die Tatsache, daß auch an solchen Chromosomenenden sich ein chromatisches Material ansammelt und dort Anschwellungen verursacht (Fig. 16), welche nicht mit dem Nucleolus in Berührung stehen. Zweitens, wenn diese angeschwollenen Chromosomenenden verhindert sind, mit dem Nucleolus in Verbindung zu treten, dann bilden sie selbständig Nucleolen (Fig. 17 u. 19). Die gewöhnliche Art und Weise der Nucleolusausbildung ist aber die, daß die Chromosomenenden mit dem auch anfänglich an dem Ende des einen Chromosoms gebildeten Nucleolus nacheinander (Fig. 13) oder auch mehrere zu gleicher Zeit (Fig. 11, 16, 17, 20) verkleben und währenddessen

diesem ihr überflüssiges Chromatinmaterial übergeben. Es können dabei auch die Chromosomenenden angeschwollen sein (Fig. 20) (das mag am Anfange des Prozesses der Fall sein) oder nicht (besonders nach der Chromatinabgabe). Manchmal sieht man auch an dem Nucleolus sehr auffallend die Spuren dieses Chromatinzuflusses, weil das angeströmte Chromatin in Form eines Tropfens noch am Ende des Nucleolus bleibt (Fig. 20, 21). Gewöhnlich verkleben die Chromosomen mit dem Nucleolus an der der Kernmembran zugewandten Seite (vielleicht deswegen sind diese an dieser Seite spitzig, z. B. Fig. 13). Es kommt indessen auch vor, daß gleichzeitig zwei Chromosomen an den entgegengesetzten Polen des Nucleolus ankleben und dadurch dann lange spindelförmige Nucleolen zustande kommen. Diese Spindelform spricht wieder für eine zweiseitige Chromatinzufuhr. Solche Nucleolen sind indessen nicht parallel zu den Chromosomen angeordnet, sondern stehen senkrecht zu diesen, wie z. B. der eine Nucleolus in Fig. 17. Diese auf den Enden der Chromosomen querstehenden Nucleolen zeigen uns, daß auf die Chromosomen bei der Orientierung im Bukett eine größere Kraft ausgeübt wird als auf die Nucleolen. Sonst könnten jene den auch sonst ebenso orientierten Nucleolus nicht quer aufstellen.

Eine weitere Frage ist, ob die Chromosomenpaare ihre Verbindungen mit dem Nucleolus in der zweiten Wachstumsperiode während ihres strepsitänen Zustandes, wo sie ihre orientierte Lage aufgegeben haben, verlieren oder nicht. Die Frage ist nämlich wichtig, weil man, was die besprochenen Fälle im Bukett anbetrifft, sagen könnte, die Ursache für die Berührung der zweierlei genannten Gebilde sei eine außerhalb stehende Kraft, diejenige nämlich, welche sie in diesem orientierten Zustand auf einen Punkt zusammengetrieben hatte.

Zum Studium des Verhältnisses zwischen den Strepsinemafäden und dem Nucleolus in diesem Zustande sind mit heißer (50° C) Zenkerscher Flüssigkeit fixierte Zupfpräparate, gefärbt mit Eisenhämatoxylin, am geeignetsten. Wie die Fig. 26—31 und sozusagen jedes mikroskopische Bild beweisen, sind einige Fadenpaare mit dem Nucleolus wahrscheinlich abwechselnd bis zur letzten Zeit des Wachstums immer in Berührung. Einen freien Nucleolus findet man nicht häufig. Gewöhnlich hängen nur zwei Fadenpaare an dem Nucleolus; in einem Falle habe ich aber sechs gefunden. Es geschieht sehr oft, daß ein Fadenpaar bogenförmig gebeugt an beiden Enden mit allen seinen vier Schenkeln an dem Nucleolus haftet oder etwa ein Schenkel frei bleibt (Fig. 29 u. 34). Und wenn man dabei Verdickungen, dickere chromatinreichere Knotenpunkte an den berührenden Fäden an oder in der Nähe des Nucleolus sieht, so kann der Zweck der

Berührung kaum ein anderer sein, als der der Chromatinabgabe. Und dementsprechend findet man im Schnitt nicht selten, daß der Nucleolus selbst eckig in der Richtung der Fäden vorspringt.

Man könnte vielleicht trotz alledem sagen, die Berührung sei auch hier zufällig, und da die strepsinemen Fadenpaare sich irgendwo im Kernraum befinden müßten, könnten sie zufällig auch den Nucleolus berühren. Obschon ich es für keinen Zufall halten kann, wenn von sieben Fadenpaaren sechs an dem Nucleolus hängen, habe ich doch nach einem andern Beweis gesucht. Da eine zufällige Berührung unter mechanischer Einwirkung sofort aufgelöst werden muß, habe ich versucht, Ovarien während des Zerzupfens stark auszustreichen, so daß auch die Kerne beschädigt werden mußten. So habe ich dann Bilder bekommen, in welchen in dem sehr abgeplatteten (Fig. 29) oder sogar aufgesprungenen Kern die anhaftenden Fadenpaare von dem Nucleolus abgezogen worden waren, aber dabei waren sie von diesem nicht abgerissen, sondern hatten den Nucleolus ein wenig ausgezogen und etwas Nucleolusmaterial mit sich geschleppt, was sich in Präparaten (und auch in Fig. 29) in Form eines hellen Verbindungsfadens äußert. Ich glaube, daß diese Beobachtungen einen über jede Kritik erhabenen Beweis dafür geben, daß zwischen dem Nucleolus und den Chromosomenpaaren eine organische Verbindung besteht.

Mikrochemische Beweise liefern für das Verhältnis des Nucleolus und der Chromosomen die besonderen Färbemethoden, die zwischen dem Nucleolar- und dem übrigen Kernchromatin einen hochgradigen färberischen Unterschied ergeben. Ich habe die diesbezüglichen sämtlichen gut bekannten Färbemittel ausprobiert und zwar Boraxcarmin am Stück, an Zupf- und Schnittpräparaten (gefärbt 1 Tag), dann in Kombination mit Bleu de Lyon und mit Methylgrün, als Obstsche Nucleolustinktion (beide in Nachfärbung), die Zimmermannsche Fuchsin-Jodgrünfärbung (nach seinen Vorschriften), dann eine Safranin-Lichtgrünfärbung und endlich das Ehrlich-Biondische Triacidverfahren. Zur Bleu de Lyon-Nachfärbung habe ich mit (50° C) Sublimat (3%) - Eisessig (1%) fixierte Zupfpräparate und aus bei 50° C mit konz. Sublimat fixiertem Material hergestellte Schnitte benutzt. Das wasserlösliche Bleu de Lyon konnte ich nicht verdünnt benutzen, da sonst während der langen Färbung das Boraxcarmin verschwunden wäre. Ich mußte mit halbverdünnter konz. 50% alkoholischer Lösung unter Kontrollierung kurz färben. Aus dem gleichen Grunde war es auch bei Methylgrünfärbung besser, eine halbverdünnte konz. wässerige Lösung anzuwenden, als die sehr verdünnte. Die Safranin-Lichtgrünfärbung habe ich an mit Sublimat oder Zenkers Flüssigkeit fixierten Präparaten so ausgeführt, daß nach 12stündiger

Safraninfärbung das Safranin, unter dem Mikroskop kontrolliert, im Lichtgrün differenziert wurde, bis die Fäden grün geworden waren. Die Triacidfärbung habe ich nach HEIDENHAIN mit 0,5% Eisessig angesäuert, bis die braune Farbe in Rot überging, angewendet (Sublimatpräparate wurden 12 Stunden lang gefärbt).

Sämtliche Doppelfärbungen ergaben das Resultat, daß der Nucleolus, der sich mit Eisenhämatoxylin meist einheitlich schwarz färbt, aus zweierlei Chromatin besteht. Das eine ist das in überwiegender Menge anwesende und Wabenwände bildende spezifische Nucleolarchromatin, das saurer Natur sein muß, weil es von basischem Safranin oder Fuchsin gefärbt wird. Das andere ist das innen in Körnchen verteilte und an der Nucleolusoberfläche sehr oft eine Membran bildende Nucleochromatin, das sich immer so färbt wie die Chromosomenschleifen, bzw. Strepsinemafäden. Außerdem muß in dem Nucleolus noch eine dritte, nicht chromatische flüssige Substanz vorhanden sein, die im Leben die Vacuolen oder die einzige große Vacuole ausfüllt. Der Nucleolus erscheint bei schwächerer Vergrößerung (800fach) nach Färbung mit Boraxcarmin, Safranin, Fuchsin und Säurefuchsin (im Triacidgemisch) immer rot, nur nach Bleu de Lyon-Färbung mit Boraxcarmin bekommt er eine schwache violette Farbe, da er von beiden Farben tingiert wird. Die kleinen Körnchen und die öfters in die Erscheinung tretende oberflächliche Membran, welche blau oder grünlich (von Bleu de Lyon, Methylgrün, Jodgrün und Lichtgrün) gefärbt werden, kann man nur mit stärkeren Immersionssystemen unterscheiden. Eine einwandfreie Differenzierung der zwei chromatischen Substanzen kann man eigentlich nur mit der ZIMMERMANNschen Fuchsin-Jodgrünmethode erreichen; bei den andern Verfahren sieht man nur, daß im Nucleolus nicht alles rot gefärbt ist, sondern in ihm auch blaue, bzw. grüne Bestandteile vorkommen, man kann sie jedoch nicht scharf unterscheiden. Die oberflächliche Membran ist aber auch mit Bleu de Lyon gut darstellbar. Alles zusammengefaßt, ist es das beste, nach dem Verfahren von ZIMMERMANN die mit Sublimat-Eisessig fixierten Zupfpräparate 10—20 Minuten mit Fuchsin-Jodgrün zu färben, sehr kurz nach ZIMMERMANNS Vorschriften in Jodalkohol (Alc. abs. mit Eisessigzusatz) zu differenzieren, richtiger gesagt nur eben abzuspülen. Diese Methode macht bei *Dendrocoelum* die andern überflüssig.

Von der oberflächlichen Membran, welche man manchmal auch an stark differenzierten Eisenhämatoxylinpräparaten zu Gesicht bekommt (Fig. 28, 29), habe ich — gleich den Herren, denen ich die Präparate im Institut demonstriert habe — anfänglich geglaubt, sie sei nur eine in der blauen Umgebung hervorgerufene optische Täuschung. Endlich habe ich

aber in Boraxcarmin-Bleu de Lyon- und in Fuchsin-Jodgrün-Zupfpräparaten Nucleolen gefunden, an denen auf einer Seite dieser Saum so dick war (Fig. 32 *b*, *c*), daß man über sein tatsächliches Vorhandensein nicht im Zweifel sein konnte. Weitere Befunde haben gezeigt, daß diese halbseitige Verdickung des oberflächlichen Saumes kein Zufall ist.

Nachdem ich erfahren hatte, daß in dem Nucleolus auch jene Art von Chromatin vorhanden ist, die die Chromosomenschleifen und Strepsinemafäden bildet, bin ich in der Überzeugung noch mehr gestärkt worden, daß die Chromosomen überflüssiges Chromatin haben oder vielleicht erzeugen, welches sie dann an die Nucleolen abgeben. Ich bin also überzeugt, daß es ein Chromatin gibt, das kein Erbchromatin ist, denn der Nucleolus geht bei der Reifeteilung nicht in die Chromosomen hinein — ebenso wie in späteren Ovogonienteilungen — sondern wird ins Plasma befördert.

Bei diesen doppelt gefärbten Bildern sind, was die Chromatinabgabe seitens der Chromosomen betrifft, besonders die Bukettstadien sehr lehrreich. Nach Zimmermannscher Doppelfärbung habe ich nämlich gesehen, daß die Nucleolen dieses Stadiums (rot gefärbt, s. Fig. 15 *b*) oft viel kürzer sind als nach Eisenhämatoxylinfärbung. An den kurzen Nucleolen war aber an der Seite, welche in die Richtung der Orientierung fällt, immer eine ergänzende blaue Chromatinmasse bemerkbar. Aus einer Schnittreihe habe ich von solch auffallenden Bildern mir acht abgezeichnet und dann das Präparat nach Ausziehung des Fuchsin-Jodgrüns mit Eisenhämatoxylin gefärbt. Nach meiner Auffassung mußte dieser blaue, in die Fortsetzung des Nucleolus fallende Chromatinteil das von den Chromosomen schon zugeflossene Chromatin sein. Das Eisenhämatoxylinpräparat hat mich davon vollkommen überzeugt, da säntliche notierten Nucleolen nach Art der Fig. 15 einheitlich gefärbt erschienen.

Das dem Nucleolus übergebene Chromatin verwandelt sich in Nucleolarchromatin. Daß bei dem Prozeß der Umwandlung dieses Chromatins der Nucleolus mitwirkt, wird dadurch bewiesen, daß ich unter den Nucleolen des Bukettstadiums nur in einem einzigen Falle zwei rot gefärbte Nucleolen gefunden habe, sonst war immer nur ein Nucleolus rot, die andern waren als Pseudonucleolen nach Art der Chromosomen blau gefärbt. Darnach können wir jetzt mit größerem Recht sagen, daß für die *Dendrocoelum*-Ovocyten ein Nucleolus charakteristisch ist.

Es gibt Nucleolen in beiden Wachstumsperioden, welche vollständig rot gefärbt sind. In solchen ist die Chromatinumwandlung beendigt und sie bleiben rot, bis sie neues Material bekommen.

Von dem Umwandlungsprozeß des Chromatins ist fast nichts zu bemerken. Nur in Fig. 32 *b* zeigte der an der Nucleolusoberfläche grau

gezeichnete Teil einen sehr blaß rötlich-violetten Ton, ein Zeichen, daß er vom Jodgrün und vom Fuchsin zugleich gefärbt war.

Meiner Überzeugung nach ist der Nucleolus im Grunde genommen eine Art Chromatin, nicht etwa — wie Vejdovský neuerdings meint [2] — nur Stoffwechsel- oder Abfallsprodukt der Chromosomen, das dann den Ausgang für die verschiedensten Secrete bildet oder direkt in Secrete sich umwandeln soll. Ich sehe vielmehr im Nucleolus eine Modifikation von Chromatin.

Den einwandfreiesten Beweis dafür, daß der Nucleolus in seiner Hauptmasse eine Art von Chromatin ist und daß das Chromosomenchromatin sich in Nucleolarchromatin wirklich umwandeln kann, habe ich noch nicht erwähnt. Es ist die von mir öfters beobachtete Tatsache (Fig. 33), daß in pathologisch veränderten strepsitänen Eizellen, in welchen die Strepsinemafäden schon gut ausgebildet waren, das Chromatin der Chromosomenpaare sich wie die Nucleolen färbt. Sehr oft habe ich in Fuchsin-Jodgrün- und in Boraxcarmin-Methylgrünpräparaten gesehen, daß in solchen Zellen die Fadenpaare nicht blau gefärbt waren, wie in den gesunden, sondern rot wie die Nucleolen. — Und ich glaube, damit habe ich genügend Beweismaterial sowohl auf morphologischem wie auch chemisch-färberischem Gebiete dafür zusammengebracht, daß die Nucleolen aus Chromosomen hervorgingen und Chromosomenchromatin ihr weiteres Wachstum verdanken, und daß es ein Chromatin gibt, welches mit der Vererbung nichts zu tun hat.

Aus der Literatur greife ich nur zwei wichtige Arbeiten heraus, in denen die Abstammung Nucleolen aus den Chromosomenschleifen durch Beobachtung nachgewiesen ist. Jörgensen [2] hat an *Proteus*-Eizellen im Bukettstadium beobachtet, daß die sog. Degenerationsnucleolen direkt aus den Chromosomen abschmelzen (S. 460, 474, 475, 538, 539, Taf. XXXIV, Fig. 2). Weiterhin hat Vejdovský [1] (S. 11, 14, 62—65) beobachtet und nach klaren Bildern von *Fridericia hegemon* illustriert (Textfig. II *c* und Fig. 16, 16a, 18, 20, 21, Taf. I), daß sowohl der Primärnucleolus (bei andern Autoren Hauptnucleolus) sämtlicher von ihm untersuchter Arten (*Enchytraeus*, *Mesenchytraeus*, *Fridericia*), wie die Secundärnucleolen der *Fridericia* und des *Mesenchytraeus* »ihren Ursprung aus der Substanz nehmen, aus welcher die Chromosomen gebaut sind, nämlich aus Chromatin«. Das gleiche Verhalten hat Vejdovský neuerdings auch bei *Aphrophora alni* ([2], S. 105—106, Taf. X) beobachtet. In seiner vorhergehenden Arbeit bemerkt er S. 63[1], daß der einzige Unterschied im Ursprung der zweierlei Nucleolen darin besteht, daß an der Bildung der Primärnucleolen sich sämtliche Chromosomen beteiligen, während schon ein Chromosom mehrere Secundärnucleolen abstoßen kann. Während bei *Fridericia* sämtliche Chromosomen sich gleichzeitig an der Primärnucleolusbildung beteiligen,

geben die Chromosomen bei *Dendrocoelum*, wie wir gesehen haben, nicht alle zusammen, sondern nacheinander ihr Material ab[1]).

Nach Schleip ist ein Nucleolus auch in den Ovocyten von *Planaria gonocephala* vorhanden, sehr selten findet man in den jungen Zellen auch zwei. Er stellt aber jede Verbindung des Nucleolus mit den Schleifen in Abrede, mit welchem Recht, könnte nur eine Nachprüfung feststellen. Eines aber ist bereits jetzt sicher, daß der Nucleolus anfänglich aus Chromosomenmaterial entsteht.

Noch eine Tatsache möchte ich erwähnen. Das Schicksal des Nucleolus bei der Auflösung während der Reifeteilung habe ich nicht beobachtet; ich habe nur wenige Reifeteilungen studiert. In einigen Fällen konnte ich sehen, daß er in zur Teilung bereiten Zellen an die Kernwand gerückt und abgeplattet war (Fig. 34). An der Kernmembran liegende und abgeplattete Nucleolen habe ich aber auch in früheren Stadien gefunden, ja sogar auch im diplotänen Bukett. Die Nucleolen des strepsitänen Stadiums, welche abgeplattet an der Kernmembran lagern, hatten sich mit Hämatein I. A. viel blasser gefärbt als die innen im Kern liegenden.

Sicheres kann ich auch nicht über die Aufgabe des Nucleolus sagen. Nur das ist sicher — nachdem wir die chromatische und zwar die chromosomale Herkunft nachgewiesen haben — daß er weder zur Ernährung der Chromosomen, noch zur Bildung derselben dient. Ich schließe mich sonst den von Jörgensen (S. 541 [2]) ausgesprochenen Vermutungen an, daß der Nucleolus an dem durch das Größenwachstum der Eizelle bedingten Stoffverkehr zwischen Kern und Zellkörper teilnimmt. Wie er halte auch ich es, nachdem ich keine Spur von der Herkunft des Chromatins aus dem Zelleib gefunden habe, für ausgeschlossen, daß der Nucleolus im *Dendrocoelum*, gemäß R. Hertwigs Annahme, zur Organisierung des aus dem Zelleib stammenden unorganisierten Chromatins zum Kernchromatin dienen könnte.

Zellkörper.

Die Chromidien.

Methodische Maßregeln, Chromatinaustreten und Kernmembran.

Nachdem ich festgestellt habe, daß die Nucleolen bei den letzten Ovogonienteilungen nicht in die Chromosomen hinein, sondern in das

[1]) Indessen muß ich bemerken, daß es bei mir eigentlich nicht nachgewiesen ist, ob wirklich sämtliche Chromosomen an der Bildung des Nucleolus teilnehmen. Es ist ja auch das möglich, daß die wenigen, am Nucleolus anhaftenden Chromosomen nicht von andern abgelöst werden.

Plasma hinaus wandern, und dort als selbständige Gebilde weiter bestehen, und ferner gefunden habe, daß auch während des Wachstums der Eizelle seitens der Chromosomen eine Chromatinabgabe in den Nucleolus hinein geschieht, und da wir wissen, daß während der Reifeteilung eine regelmäßige Chromatinreduction geschieht, wobei das überflüssige Chromatin in Form von Richtungskörpern nicht immer ausgeworfen wird, sondern es Fälle gibt, wo es im Zellkörper drinnen bleibt und dort aufgebraucht wird, so können wir gegen die Möglichkeit a priori nichts einwenden, daß in der Eizelle eine Chromatinabgabe auch während des Wachstums in den Zellkörper hinaus geschehen kann.

Nach mühsamer Nachforschung konnte ich in mehreren Fällen feststellen, daß diese Chromatinabgabe bei *Dendrocoelum* im Bukettstadium an den Enden der Chromosomen wirklich geschieht. Über diese Tatsache habe ich schon oben in Fig. 12, 13 und 18 berichtet. Die im Zellkörper vorkommenden chromatischen Granula, welche in der *Dendrocoelum*-Eizelle als Dotterkörnchen schon von Mattiesen (S. 294, Fig. 17, 18, 21, 22) erwähnt wurden, und von Arnold (S. 436—438 und an den meisten Figuren die schwarzen Körnchen) als solche ebenso erwähnt und gezeichnet wurden, sind also Chromidien. Derartige Körnchen hat auch Schleip (S. 363, 364, 368) bei *Planaria gonocephala* beschrieben.

Ich bin bei der Herstellung der zu diesen Beobachtungen benutzten Präparate, und bei Beurteilung der mikroskopischen Bilder mit der größten Vorsicht verfahren. Mein hochverehrter Lehrer Apáthy hat mir zu meinen diesbezüglichen Untersuchungen den Rat gegeben, ich solle mich sowohl vor optischen als mechanischen Artefakten hüten. Nach ihm kann ich optische Artefakte nur in der Weise ausschließen, daß ich sehr dünne (2—3 μ) und stark gefärbte Schnitte mit einem Lichtstrahlkegel von größtem Öffnungswinkel (d. h. mit einem Immersionskondensor, welcher 1,40 N. A. hat) und mit Immersionslinse untersuche, und nur solche Bilder für beweisend halte, welche ich an äquatorial durchschnittenen Kernen bekomme. Bei diesen gegebenen optischen Bedingungen kommt nämlich nie eine optische Verdickung und dabei täuschende Berührung in dem mikroskopischen Bilde nahe aneinander liegender, aber sich nicht berührender Gebilde zustande. Um es zu erreichen, daß die Kernmembran senkrecht auf dem Gesichtsfeld steht, ist es nötig, daß der Kern äquatorial durchschnitten wird. Bei einer schieflaufenden Kernmembran sind wir nämlich immer der Gefahr ausgesetzt, daß Gebilde, welche neben der Kernmembran liegen, in diese projiziert erscheinen, weil das Mikroskop uns nie eine optische Ebene zeigt, sondern eine bestimmte Dicke des Schnittes, die im umgekehrten Verhältnis zur

Vergrößerung steht. Und die so künstlich in die Kernmembran projizierten Gebilde lassen eine Durchdringung vortäuschen.

Ich möchte hier für mich speziell bemerken, daß bei *Dendrocoelum* manchmal Zellen von den ihnen benachbarten, mitsamt ihrem Kern, so zusammengedrängt sein können, daß Schnitte, die durch die Mitte des Kernes gehen, nicht zugleich senkrecht auf der Kernmembran stehen.

Die mechanischen Artefakte sind nach Apáthy dadurch auszuschließen, wenn das Messer die erwähnten 2—3 μ dicken Schnitte gar nicht zusammengezogen und nicht in Streifen aufgerissen schneidet. Ohne diese Voraussetzungen können wir nie wissen, in welchen künstlichen Zustand die Schneide des Messers die chromatischen Körnchen gebracht hatte. Es bleibt nämlich der Weg, auf welchem das Messer etwas vor sich geschoben hat, nicht immer sichtbar.

Um diese Bedingungen zu erfüllen, kann ich das Bandschneiden des Paraffinmaterials gar nicht empfehlen, denn mit quer gestelltem Messer ist dabei das Zusammendrücken der Schnitte nie zu vermeiden, und es werden auch die Schnitte in der Richtung des Schneidens immer kürzer, als die Blockoberfläche. Weil das Objekt gar nicht homogen ist, können wir uns bei diesem Schneiden gar keine Vorstellung machen, daß im Schnitt alles gleichmäßig ohne räumliche Verhältnisveränderungen zusammengedrückt ist; im Gegenteil müssen die verschiedentlich widerstandsfähigen Elemente verschiedentlich von ihrem Platz fortbewegt werden. In dieser Hinsicht benehmen sich eben die Nucleolen am extremsten, weil sie durch die Behandlung außerordentlich hart werden. Das Messer muß also beim Schneiden schief gestellt werden, denn in dieser Weise sind die Schnitte am wenigsten zusammengezogen.

Außerordentlich günstig ist aber für diese Untersuchungen die doppelte Celloidin-Paraffineinbettung nach Apáthy. Bekanntlich vereinigt diese Methode jeden Vorteil der beiden Verfahren. Die nach dieser Methode gefertigten Schnitte sind beim Aufkleben als Paraffinschnitte zu behandeln und bei der Verfertigung der Präparate als Celloidinschnitte. Am wichtigsten ist für uns in dieser ganzen Methode der Umstand, daß beim schief gestellten guten Messer, wenn der Schnitt vor dem Messer sich rollt — eine Bedingung des guten Schneidens — dieser durch das Messer gar nicht verkürzt wird und dadurch Verschiebungen der Gewebsteile sehr herabgesetzt werden. Da es aber manchmal auch trotz jeder Vorsicht vorkommt, daß der Nucleolus mit dem Messer aus seiner ursprünglichen Lage verschoben wird, so müssen wir noch zu den von Apáthy vorgeschlagenen Untersuchungsregeln, also zur Beleuchtung, dünnen Schnitten, starker Färbung, äquatorial getroffenem Kern noch hinzufügen,

daß alles, was an der unteren und oberen Fläche des Schnittes zu sehen ist, gar nicht in acht zu nehmen ist. Besonders dürfen wir uns auf solche Bilder nicht stützen, auf denen ein Chromatinaustritt in Richtung der Messerbewegung zu sehen ist. Zum Beweise dienen allein nur solche Bilder, welche im Innern des Schnittes stehen.

Wir können daraus sehen, mit welchen Schwierigkeiten gewissenhafte Untersuchungen in dem Gebiete der Chromidiallehre verbunden sind, da man alle nicht unbedingt eindeutigen Bilder aus Vorsicht nicht berücksichtigen darf.

In den von mir beobachteten Fällen geschieht die Chromatinabgabe nur im Bukettstadium und immer nach der Seite, wohin die Chromosomenbogen gerichtet sind. Wenn wir die Veränderungen, welche mit den Chromosomen bis zum Ende des Buketts geschehen, nach R. Hertwig für eine unterdrückte Mitose halten, können wir vielleicht sagen, daß aus den bei den letzten Ovogonienmitosen durchgeführten Erscheinungen hier in dieser unterdrückten Ovocytenmitose nur die Nucleolusabgabe als die notwendigste durchgeführt wird. Man könnte von uns fordern, daß diese Chromatinemissionserscheinungen bei jeder Bukettfigur oder doch bei der Mehrzahl derselben sichtbar sein müssen. Wenn das nicht der Fall ist, so darf ich dabei auf die Ovogonienteilungen des *Dendrocoelum* hinweisen, welche selbst schwer zu finden sind, obschon diese Teilungen sich regelmäßig vollziehen müssen. Die Chromatinemission muß noch schneller geschehen als eine Teilung abläuft, denn die Öffnung der Kernmembran kann für den Kern gar kein vorteilhafter Zustand sein. Auf letzteren Punkt komme ich noch zurück.

Wie das Passieren des Chromatins geschieht, dafür habe ich selbst ebensowenig einleuchtende Bilder bekommen wie die früheren Beobachter. Ich habe nur gesehen, daß die an den Chromosomenenden angesammelte Chromatinmasse die Membran ohne jede auffallende Umänderung derselben passiert. Auch ist sie selbst in Höhe der Kernmembran nicht fortwährend eingeschnürt (Fig. 12). Nachher löst sie sich von den Chromosomenenden ab; doch kann sie einige Zeit vermittels einer dünnen Faser mit dem Chromosom verbunden bleiben. In diesem letzteren Zustande kann man sie am meisten antreffen. Eine Einschnürung zwischen den abzugebenden Chromatinteilen und Chromosomen kann schon innerhalb des Kernes zustande kommen. Wie gesagt, der emittierte Teil erscheint an der äußeren Kernoberfläche meistens in Form eines Nucleolus. In einem Falle sah ich ein nur wenig verändertes, scholliges, rauhes Gebilde und in einem andern, in Fig. 18 abgebildeten, einen auffallend verlängerten, körnigen Faden. Der letztere Fall ist mehr oder minder ähnlich den von

Jörgensen bei *Proteus* gefundenen ([2.] S. 467, 468, Taf. XXXV, Fig. 1, Taf. XLIV, Fig. 5, 6). Bei Jörgensen ist das nicht fädige, sondern nucleolusartige körnige Austreten (Taf. XXXV, Fig. 6) seltener (S. 467). Die Zelle selbst, die ich abgebildet habe, war zwischen den erwachsenen Nachbarzellen verlängert eingekeilt. Ihre nicht so verlängerte Form, wie sie sich im nächsten Schnitte zeigt, ist auf der nebenstehenden Figur abgebildet. Die im Zellkörper befindliche Faser zeigt ein ganz anderes Aussehen, wie die Chromosomen: sie ist körnig, bröckelig und knotig. Interessant ist es, daß in derselben Zelle noch zwei Chromosomen spitzig ausgezogen waren und ein feiner Faden von dem einen die Kernmembran schon durchbohrt hatte. Solche Chromosomenendungen sind im Kern des *Dendrocoelum*-Eies gar keine Seltenheit.

Daß eine Chromatinabgabe auch bei *Planaria gonocephala* in der Weise geschehen kann, wie wir das bei *Dendrocoelum* gesehen haben, können wir vielleicht daraus folgern, daß chromatische Granula nach Schleips Bemerkung auch bei diesem Tiere in den Bukettstadien an der Stelle zu finden sind, wohin die Schleifen gerichtet sind. Er beobachtet zwar keinen Chromatinaustritt, nimmt aber doch ein Austreten von abgeschnürtem Nucleolenmaterial wahr. Nach ihm sieht man oft, wie der Nucleolus kleine, mit Eisenhämatoxylin sich schwärzende Körperchen abschnürt, welche ins Plasma hinaustreten. Er gibt an, daß die ausgetretenen Körnchen sich mit Böhmerschem Hämatoxylin ebenso wie der Nucleolus blaß färben. Abschnürungen am Nucleolus konnte auch ich selbst wahrnehmen, ja in meiner erwähnten ungarischen Arbeit war ich selbst geneigt, die Chromidien direkt aus dem Nucleolus des strepsitänen Kernes abstammen zu lassen. Aber während der neueren Untersuchungen, wo ich die mikroskopischen Bilder mir größerer Kritik behandelt habe, bekam ich dafür kein weiteres Beweismaterial.

Von Austreten der Nucleolen aus den Ovocyten (mit Mixochromosomen) berichtet neuerdings Vejdovský ([2.] S. 105—106, Taf. X) bei *Aphrophora alni*. Das Bild des Cytoplasmas seiner Fig. 21, 23, 24 der Taf. X ist dem von mir gewonnenen äußerst ähnlich. Vejdovský faßt diese chromatischen Granula als ausgewanderte Nucleolen auf, welche ursprünglich von den Mixochromosomen (Pachytän, Diplotän) abgeschmolzen sind. Diese Granula unterscheiden sich also bezüglich ihres Ursprungs nicht von denen, die ich beschrieben habe.

Bei der Chromatinwanderung kommt in erster Linie

die Beschaffenheit der Kernmembran

in Betracht. Da von seiten mancher Forscher eine echte Kernmembran im allgemeinen in Abrede gestellt wird, bemühte ich mich, die sonst in

erwachsenen Ovocyten auch nach ihrer Dicke und Lichtbrechung gut unterscheidbare Membran in den früheren Ovocytenstadien scharf darstellbar zu machen. Nach solchen Fixierungen, wo die Struktur der Kerngrundsubstanz vernichtet ist, sieht man auch in jungen Ovocyten eine Kernmembran schon sehr leicht, aber es hindert uns nichts, diese Membran für hingeschlagene Grundsubstanz zu halten. Um nun von einem einwandfreien Kernmembrannachweis sprechen zu können, ist vor allem die tadellose Fixierung der Kerngrundsubstanz nötig. Während dies in erwachsenen Zellen mit kalten oder warmen Zenkerschen Flüssigkeiten sehr leicht geschieht, ist die Membran in jungen Ovocyten am besten mit Flemmingscher Lösung, mit reiner Osmiumlösung oder mit einer Mischung, die $^1/_2$% Osmium und 2% Kalibichromicum enthält, darstellbar. Diese Fixierungsflüssigkeiten erhalten in jungen Ovocyten auch Kernform und Kerngröße sehr gut, in erwachsenen (in dem strepsitänen Zustande) ist aber die Kernmembran gar nicht prall, sondern außerordentlich gefaltet (Fig. 22 *a*), ein Zustand, den man weder im Leben, noch nach Gebrauch heißer Flüssigkeiten sieht.

Die Kernmembran ist nach Sublimatmischungen durch Hämatein I. A., Eisenhämatoxylin, Bleu de Lyon, Methylgrün, Lichtgrün leicht färbbar; doch ist sie am schärfsten darstellbar durch Ehrlich-Biondis Triacid, wenn man die Färbung nach Heidenhain angesäuert ausführt. In Osmiumpräparaten ist sie mit Eisenhämatoxylin oder durch Mitochondrienmethoden mit nicht zu langer Differenzierung gut darstellbar. Die leicht und bequem ausführbare Schultzesche Osmium-Hämatoxylinmethode macht aber jedes andere Verfahren überflüssig, besonders wenn wir diese nach Fixierung in 30° C-Thermostat (3 Tage) mit meiner obigen Osmium-Kalibichromicummischung durchführen. Mit den meisten Verfahren ist nämlich eine Kernmembran nur deswegen nicht unterscheidbar, da diese selbst sich chromatisch färbt, und die Chromatinkörnchen mit Vorliebe auf ihr sitzen, und die Kernmembran verschwinden lassen. Die Schultzesche Methode hat nun ihren Vorteil darin, daß sie Chromatin wenig färbt und nach meiner Modifikation angewandt in manchen Geweben überhaupt nicht, während sie die Kernmembran als eine scharf gezogene Linie darstellt. — In dieser Weise habe ich erfahren, daß eine Kernmembran schon am Anfange des leptotänen Buketts, von dem Orientierungspol angefangen, sich ausbildet und in der Zeit des Chromatinaustritts unbedingt in völliger Ausbildung anwesend ist. Wenn ich die mit Eisenhämatoxylin (je einen Tag gebeizt und gefärbt) nach Sublimateisessig gewonnenen Bilder dazu benutzen darf, so möchte ich bemerken, daß ich nach diesem Verfahren zur Zeit der Kernmembranbildung an der Stelle derselben anfänglich eine

Schicht von Pünktchen, Plättchen gesehen habe, welche an der Polseite schon zu einer ununterbrochenen Membran vereinigt waren.

Meines Wissens war es bis jetzt nur eine Annahme, daß die Kernmembran nach Art tierischer Membran funktioniert, also daß sie als semipermeable Membran osmotische Verhältnisse zwischen Kern und Zellkörper aufrecht erhält (s. z. B. neuerdings v. KEMNITZ S. 581, 582). Einen Beweis lieferte mir für diese Annahme der Zufall an meinen Zupfpräparaten. Es geschah außerordentlich oft, daß während des Zerzupfens die Zelle beschädigt und ihr Protoplasma ausgestrichen wurde. Dadurch gerieten die Kerne (auch von den verschiedensten Geweben) frei in die Körperflüssigkeit, wozu auch noch ein wenig Quellwasser kam. Schon der Umstand, daß die riesengroßen Kerne bei dem Ausstreichen nicht zerplatzt sind, beweist die Anwesenheit einer konsistenten Membran. Auffallend war aber der Umstand, daß diese freien Kerne — besonders ins Auge fallend war es an Dotterzellkernen zu sehen — im Verhältnis zu den nicht freien, von ihrem Protoplasma umschlossenen, sehr angeschwollen und ausgebreitet waren, so daß einige während des Zerzupfens, was höchstens 1 Minute lang dauerte, beinahe die doppelte Größe erlangten. Als Erklärung dafür kann man nur das eine aufführen, daß die freien Kerne gegen ihre neue Umgebung hypertonisch waren und daß sie infolgedessen aus ihrer Umgebung Wasser aufgenommen hatten, um den osmotischen Druck auszugleichen. Das beweist weiterhin, daß die Kernmembran semipermeabel, also nur für gewisse gelöste colloidale Stoffe durchdringbar ist.

Ist hierdurch erwiesen, daß der Kern von einer Membran umgeben ist, welcher die osmotischen Verhältnisse zwischen ihm und dem Zellkörper aufrecht erhält, so dürfen wir auch die schon von v. KEMNITZ ausgesprochenen zwei prinzipiellen Folgen dieses Umstandes nicht unberücksichtigt lassen: zuerst die, daß eine solche Membran von gelösten colloidalen Stoffen — also auch von gelöstem Chromatin — undurchdringbar ist; zweitens die, daß an ihr freie Öffnungen nicht auftreten können, denn es würde sonst ihre Semipermeabilität überflüssig.

Daß der Kern und Zellkörper voneinander durch eine Membran getrennt werden müssen, darauf weist schon der Umstand hin, daß diese substantiell verschieden gebauten Zellteile ungemischt nebeneinander stehen. Weiterhin ist die Semipermeabilität der Kernmembran ein Hinweis darauf, daß der Stoffaustausch zwischen Kern und Zellkörper sich gar nicht auf großmolekularige Verbindungen bezieht, sondern im chemischen Laboratorium des Kernes höchstwahrscheinlich gewisse Fermente und Katalysatoren (s. JÖRGENSEN [2.] S. 604) hergestellt und von diesem

abgegeben werden. Wir müssen also von der Annahme GOLDSCHMIDTS, POPOFFS und MOROFFS Abstand nehmen, nach welchen das Chromatin im gelösten Zustande den Kern verlassen kann. Gegen GOLDSCHMIDTS Auffassung, daß der Austritt der Chromidien ein osmotischer Vorgang ist, bemerkt v. KEMNITZ (S. 582) sehr treffend, daß nach den Gesetzen der Osmose zwischen Chromatin des Kernes und Plasmas sich stets ein Gleichgewichtszustand herstellen müßte und nicht zu verstehen wäre, warum sich jemals ein chromatinreicher Kern in einem chromatinarmen oder gar chromatinfreien Plasma finden könnte.

Übrigens ist es noch eine offene Frage, ob das Chromatin im Leben lösbar ist. Darunter verstehe ich nicht das Unsichtbar-, das Unfärbbarwerden des Chromatins, sondern eine echte physikalische Lösbarkeit. Aus zwei Gesichtspunkten möchte ich die physikalische Lösbarkeit des lebenden Chromatins bezweifeln. Es ist einmal wahr, daß wir das Chromatin immer in geformtem Zustande beobachten. Wahr ist ferner, daß das Lebendige, das nicht Physikalische sich innerhalb der Zelle so ins Auge fallend an diesen geformten Zellelementen äußert. Daher ist es höchst wahrscheinlich, daß diese morphologischen Träger vieler Lebenserscheinungen und der Vererbung als solche im Zelleben gar nicht mehr in das Gebiet der physikalischen Löslichkeit fallen. Anderseits müßte die Auflösung des Chromatins — wie man dessen Unsichtbarwerden nach dem Bukett auch auffassen mag — ein solches Übergewicht der Hypotonie im Kern hervorbringen, daß der letztere bei dem osmotischen Ausgleich sich sehr auffallend schnell vergrößern sollte. Dieser Vorgang kann aber und könnte, wenn es geschieht, der Beobachtung nicht entgehen. Es fehlen uns aber Beobachtungen, die damit in Zusammenhang gebracht werden können, überhaupt.

JÖRGENSEN ([2.] S. 468) nimmt zwei Möglichkeiten für die Chromatinpassage durch die Kernmembran an: »Einmal kann die Kernmembran das Chromatin lösen und nach außen in das Plasma abgeben, oder aber die abschmelzenden Chromatinschleifen können die Kernmembran direkt durchbohren, so daß diese also an den betreffenden Stellen unterbrochen wäre«. Das wissen wir, daß die Kernmembran auflösbar ist. Damit ist aber, wenn sie bei ihrer Auflösung nicht chemisch verändert wird — was gar nicht ausschließbar ist — auch die Möglichkeit gegeben, daß sie selbst Stoffe in sich lösen kann. Infolgedessen kommt v. KEMNITZ (S. 582), indem er die vorher zitierte JÖRGENSENsche Auffassung erweitert und die OVERTONsche Plasmahauttheorie in Betracht zieht, zu der Anschauung, daß die austretende, in fortwährend weiterschreitendem Abbau begriffene Substanz zuerst einen in Kernmembran lösbaren und dann weiter wieder einen nicht lösbaren Zustand erreicht, wobei das Austreten erfolgt. Das alles ist aber,

wie sich auch v. Kemnitz ausdrückt (S. 582), nur eine Vorstellung. Mir scheint aber vorderhand auch die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß das zur Abgabe bestimmte Chromatin als so hochgradig differenziertes Zellelement die Fähigkeit hat, die Kernmembran zu durchdringen (wie z. B. die Bindegewebsfibrillen die Fähigkeit haben, ihre Zelle zu verlassen). Dadurch wird die Semipermeabilität der Kernmembran nicht aufgehoben, denn das Chromatin kann während der Passage gewissermaßen als Stöpsel des von ihm geformten Loches dienen.

Inwiefern ich mit der von Buchner [2.] und von Jörgensen [2.] angenommenen Wirkung des Centriols bei Chromatinaustreten rechnen kann, werde ich bei der Centriolfrage weiter erörtern.

Auf die nähere Literatur der Chromidien will ich nicht eingehen, da sie bei Jörgensen ([2.] S. 469—472) und bei v. Kemnitz (an mehreren Stellen S. 534—539) behandelt ist.

Färberisches Verhalten und Schicksal der Chromidien.

Da der Kern immer zweierlei Chromatin enthält, nämlich ein körnig verteiltes und das kompakte Nucleolarchromatin, welche voneinander nach ihrem färberischen Verhalten immer gut unterscheidbar sind, so hätte man auch bis jetzt darauf acht geben müssen, zu welcher Art des Kernchromatins die beschriebenen Chromidien gehören. Wenn es nicht geschah, oder geschehen konnte, so muß man dies dem Umstand zuschreiben, daß zur Untersuchung bei dieser Frage hauptsächlich Hämatein und Hämatoxylingemische benutzt wurden, welche höchstens in der Stärke der Färbung des zweierlei Chromatins etwas Unterschied zeigen können. Ich habe bei der Chromidienuntersuchung, abgesehen von den bei der Nucleolusfrage oben beschriebenen fünf Färbemethoden noch Apáthys Hämatein I. A., Delafieldsches Hämatoxylin, Eisenhämatoxylin, Safranin (nach Osmium-Präparaten), Schultzes Osmium-Hämatoxylin, Toluidinblau, Thionin und Bendas Mitochondrienverfahren angewendet. Sämtliche zwölf Färbemethoden haben mir gezeigt, daß die Chromidien sich nach Art von Nucleolen färben. Und das ist auch zu erwarten, da die Chromidien einerseits von Ovogoniennucleolen abgeleitet waren, anderseits — wie wir schon oben bewiesen haben — dasselbe Chromatin, das aus dem Ovocytenkern austritt, innerhalb des Kernes sich zu Nucleolarchromatin umwandelt. Da bei dem Studium des Chromatinaustretens nur scharf differenzierte Präparate benutzbar sind, und solche nur nach Eisenhämatoxylinfärbung zu bekommen sind, so kann ich die Frage nicht beantworten, ob das austretende Chromatin als schon umgewandeltes Nucleolarchromatin durchdringt, oder sich erst nach dem Durchdringen zu solchem umwandelt.

Bemerken muß ich noch, daß für die Chromidien die oben erwähnten Färbungsverfahren nicht alle befriedigend differenzierte Bilder lieferten. Es sind z. B. nach Boraxcarmin und Fuchsin (Zimmermanns Verfahren) die Chromidialgranula selten stärker wie das Protoplasma gefärbt, und sie entfärben sich auch bei der Differenzierung mit diesem gleichzeitig. Boraxcarmin färbt sonst selbst den Nucleolus blaß. Von den doppelten Nucleolusfärbungen liefert nur das Safranin-Lichtgrün an Osmiumpräparaten schöne Resultate. Nach Toluidinblau und Thionin ist auch das Protoplasma so tiefblau gefärbt, daß man deswegen nur die größeren Chromidialgranula gut unterscheiden kann. Eindeutige Resultate mit einförmigen Bildern geben: Eisenhämatoxylin (nach den verschiedensten Fixierungen, auch in den damit erzielten Mitochondrienpräparaten), Hämatein I. A., Delafields und Böhmers Hämatoxylin, Schultzes Osmiumhämatoxylin, Safranin-Lichtgrün (nach Osmium), Ehrlich-Biondis Triacid (angesäuert) und Bendas Mitochondrienverfahren.

Nachdem ich mich dahin geäußert habe, daß die Chromidien sich nucleolenähnlich färben, müßte man erwarten, daß sie mit jeder Methode, womit die Nucleolen zu färben sind, darstellbar wären. Wenn das nicht der Fall ist, so müssen wir dafür zwei Umstände verantwortlich machen. Vor allem geschieht die Färbung des Nucleolus in einer beinahe ungefärbten Kerngrundsubstanz, das Protoplasma aber ist selbst sehr stark und zwar meistens chromatisch tingierbar. Weiterhin sind die Nucleolen sehr lichtbrechende kompakte Gebilde, und deshalb geben sie bei Differenzierung sehr spät ihre Farbe ab; wegen ihrer Kompaktheit dringt die Differenzierungsflüssigkeit spät und langsam ein. Die Chromidialgranula sind aber gar keine kompakten Gebilde, sie sind locker, und deshalb können sie schnell von Differenzierungsflüssigkeiten durchdrungen werden. In diesen zwei Verhältnissen: starke Färbbarkeit des Protoplasmas, lockere Konsistenz der Chromidialgranula, muß man also den Grund für die nicht vollständige Übereinstimmung der Färbung des Nucleolus und der Chromidien suchen.

Wir müssen bei Betrachtung der Färbung der Chromidien vor allem bei dem Bendaschen Mitochondrienverfahren stehen bleiben, denn man könnte, weil die Chromidialgranula sich ganz mitochondrienähnlich (doch stärker rot-violett) färben, sofort sagen, daß sie Mitochondrien sind. Da ich aber die Mitochondrien der *Dendrocoelum*-Eizelle und meine Chromidialgranula für ganz verschiedene Gebilde halte und genetische Beziehungen unter ihnen nicht wahrnehmen konnte, so möchte ich gegen solche Deutung schon im voraus bemerken, daß, wenn man die Bendasche Methode spezifisch und ausschließlich charakteristisch für Mitochondrien hält, dann muß

man auch die Chromiolen der Chromosomenschleifen, den Nucleolus, die später zu beschreibenden oberflächlichen Körnchen der erwachsenen Eizelle und noch so vielerlei Gebilde des *Dendrocoelum*-Organismus, welche gar nichts mit den Mitochondrien zu tun haben, für Mitochondrien halten. Ich halte mich auch in dieser Hinsicht streng an Apáthy, der lehrt, daß es kein einziges Zellelement gibt, welches nach einer einzigen Färbemethode — wie er sich ausdrückt: nach einer einzigen mikrotechnischen Reaktion — definierbar ist. Man muß immer umfangreiche Reaktionsgruppen zusammenstellen, und die Dinge nur nach Übereinstimmung oder nach Abweichen (im ganzen oder in einzelnen Gliedern derselben) der Reaktionsgruppen identifizieren bzw. unterscheiden. Meine oben zusammengestellte mikrotechnische Reaktionsgruppe der Chromidiengranula ist von den sonst noch nicht sehr ausgearbeiteten Reaktionen der Mitochondrien umsomehr unterscheidbar, weil ich während der verschiedensten Färbungen auf gar keinen ihrer Chromatizität widersprechenden Befund gestoßen bin. Alle von mir benutzten drei Mitochondrienfärbungen (die Bendasche, das Eisenhämatoxylin, Schultzes Osmiumhämatoxylin) färben übereinstimmend stärker die chromatischen Granula als die Mitochondrien und zugleich ist bei allen dreien auch der Nucleolus viel stärker gefärbt als das andere Chromatin. Hämatein I. A. färbt aber das gewöhnliche Kernchromatin stärker blau, den Nucleolus dagegen anfänglich blaß graublau; dementsprechend sind auch die Chromidialgranula nach kurzer (10—15 Minuten) Einwirkung des Hämateins blasser, und erst, wenn nach weiterer Einwirkung der Farblösung die Nucleolusfärbung in der Stärke zunimmt, so werden auch die Chromidialgranula stärker gefärbt. Durch das Triacidgemisch werden besonders die chromatischen Granula der jungen Ovocyten nucleolusartig stark rot gefärbt, die eben erst ihre Umwandlung aus dem Nucleoluszustand begonnen haben.

Die Chromidien des *Dendrocoelum* können wir also nicht ohne weiteres mit den früher beschriebenen Chromidien vollständig identifizieren. Die Nucleolen haben nämlich in der Literatur eine sehr verschiedene Bedeutung. Manche sehen in ihnen Kernsecrete, Vejdovský Chromosomensecrete. Die Chromidienlehre gründet aber ihre theoretische Anschauungen auf ein Chromatin, was mit dem gewöhnlichen Kernchromatin identisch sein soll. So Fremdartiges stellen die in Rede stehenden Chromidien des *Dendrocoelum* doch nicht vor, da ich, wie wir schon gesehen haben, nachgewiesen habe, daß die Nucleolen eine basische Art von Chromatin sind.

Damit können wir zur Betrachtung des Schicksals der Chromidiengranula im Zellkörper übergehen. Ihre Veränderungen bestehen darin, daß sie sich durch Teilungen vermehren, ein Teil von ihnen sich auflockert

und substantiell ins Protoplasma aufgeht, während der zurückgebliebene Teil vielleicht durch Umbau zur Vergrößerung der bei der Reifeteilung so groß erscheinenden Centriolen dient.

Ihre gewöhnliche Form bleibt auch weiter kugelig. Oft werden sie aber unregelmäßig, verlängert, stäbchen- oder fadenförmig. Manchmal sind sie einem stäbchenförmigen Centriol ähnlich und genau so groß wie letzteres (Fig. 58, rechts). Nicht selten sind sie auch viereckig, prismenförmig, wie die Nucleolen der Klebzellendrüsen von *Dendrocoelum*.

Eine hochgradige Individualität zeigen diese Gebilde durch ihre Vermehrungsfähigkeit. Während der ersten Wachstumsperiode konnte ich keine andere Art der Vermehrung bemerken, als die, daß sich von den großen Granula kleinere abschnürten (Fig. 20). In der Weise vermehren sie sich auch später in der Mehrzahl der Fälle. Sehr oft geschieht es aber, daß die nacheinander vielleicht schnell abgeschnürten Körnchen untereinander noch im Zusammenhang bleiben, und dadurch kurze Fädchen (Fig. 31) entstehen. Man bemerkt aber hier und dort ganz regelmäßige Teilungen (Fig. 35), wie die Teilungshälften in der Richtung ihres Entfernens mit einem sich blasser, wie die Körnchen, färbenden Hofe zusammengebunden sind. Derartige Teilungsfiguren hat mir Herr Dr. ROSEN innerhalb des Ovocytenkernes an den Nucleolen des von ihm augenblicklich untersuchten *Echinaster sepositus* gezeigt. Weiterhin kommen sehr bemerkenswerte Teilungen dadurch zustande, daß ein großes Granulum sich zuerst verlängert, und dann an dem einen Ende sich proglottisartig kleine Körnchen abschnüren. Diesen Vorgang zeigt Fig. 36, wo in *a* und *b* als in zwei aufeinanderfolgenden Schnitten derselben Zelle das fragezeichenförmige und das lange Stück Teile desselben Fadens sind. Es kam sonst auch das nicht selten vor, daß von einem centralen Granulum Zweige ausgingen (Fig. 37), an dessen Enden sich Sprossen abschnürten, ein Bild, das sehr dem Wachstum und der Vermehrung niedriger Pilze ähnlich ist. Öfters geschieht es aber, daß zuerst durch Wachstum ein dünner, langer Faden zustande kommt, an dem perlschnurartige Knoten auftreten, und dann die einzelnen Glieder sich voneinander trennen. Der Faden kann auch noch länger sein, als der, den Fig. 38 zeigt. Man sieht oft als Resultat des Lostrennens von eingeschnürten Knoten mehrere Granula in einer Linie. Z. B. gerieten die in Fig. 38 links in eine Linie fallenden drei Granula nicht durch die Projektion in diese Lage, sondern ihr Verhältnis entspricht der Tatsache.

Ich glaube, wir können bei diesen beschriebenen Vermehrungserscheinungen nicht an das Umgekehrte denken, nämlich daran, daß alle diese Figuren nicht eine Teilung, sondern im Gegenteil das Zusammenschmelzen eventuell im Zellkörper zustande gekommener Körnchen zeigen. Da-

gegen spricht ja doch schon der Umstand, daß anfänglich in jungen Ovocyten große Granula (Fig. 10, 11) zu sehen sind und die kleinen sich erst dann vermehren, wenn an den großen Abschnürungen auftreten.

Daß ein Teil der Chromidialgranula am Zellkörperwachstum mit den andern dazu berufenen Elementen mitarbeitet, und dabei aufgebraucht wird, kann man auch schon daraus folgern, daß die Zahl der Granula bei der Beendigung des Wachstums abnimmt. Anderseits bekommt man auch sehr oft sog. Auflösungsbilder zu Gesicht. Solche sind in Fig. 37 der große blasse, in Fig. 36 *a* und Fig. 39 der gekörnelte und gerissene Körper, in Fig. 40 die mit verschwindendem Hof versehenen Schollen. In der letzten Figur sind unten ganz angegriffene, verschwindende Granula mit unbestimmtem Umriß zu sehen.

Wie die nicht aufgebrauchten Granula bei der Bildung des Teilungscentriols aufgebraucht werden, wird unten näher auseinandergesetzt.

Ich könnte damit die Besprechung der Chromidien im *Dendrocoelum* abschließen, wenn nicht in einer neuerdings erschienenen Arbeit v. Kemnitz bei der Kritik des derzeitigen Standes des Chromidialapparates der Metazoenzelle auch bezüglich der Eizelle Möglichkeiten dafür anführen würde, daß der umgekehrte Weg der morphologisch darstellbaren Stoffwanderungen denkbar wäre. Ferner unterzieht er die Kernfärbemethode einer scharfen Kritik. Beide Punkte berühren meine obigen Resultate.

Zu dem Gedanken, daß die in den Eizellen früher beschriebenen Chromatinemissionen umgekehrt im Sinne von Eintreten in den Kern hinein aus dem Zellkörper eines von ihm als Prochromatin bezeichneten Phosphatidstoffes auslegbar sind, kommt v. Kemnitz durch die Annahme, daß die zum Riesenwachtum bestimmten Eizellen ähnliche Verhältnisse zeigen dürften, wie die *Ascaris*-Muskelzellen (S. 586), die er untersuchte und bei denen er auf experimentellem und mikrochemischem Wege nachwies, daß die von Goldschmidt beschriebenen Chromidialstränge nicht vom Kern stammen und kein Chromatin repräsentieren. Außerdem beobachtet er dort doch in einigen Fällen direkte Durchtrittserscheinungen durch die Kernmembran an gewissen Stoffpartikeln, welche sich nach Mallorys Magenta-Pikroindigcarmin- und Delafield-Färbung genau so, wie das Kernchromatin tingieren. Er bringt diesen Befund in Zusammenhang mit gewissen Vacuolen bzw. mit deren Inhalt. die er nach seiner Flemmingschen Fixierung im Kern und in der Kernumgebung nachwies und die durch schwarze Strahlung gekennzeichnet sind. Er faßt diese als Phosphatidvacuolen auf (S. 560, 561).

Warum v. Kemnitz in diesem gegebenen Falle lieber eine Prochromatineinwanderung als ein Chromatinaustreten annimmt, begründet er

durch folgende zwei Erwägungen. Wenn das Chromatin in fein verteilter Form die Kernmembran in der Richtung Kern—Plasma passierte, wäre nicht einzusehen, warum eine Strecke vom Kern entfernt es wieder zu größeren Brocken und Kugeln zusammenfließen sollte. Es ist aber ... »die Auflösung in feine Partikel bei einer Wanderung in der Richtung Plasma — Kern verständlich, da die Auflösung in feinste Partikel das Hindurchtreten durch die Kernmembran in den Kern hinein offenbar begünstigt«. Als Erklärung kann man das schließlich gelten lassen, aber ein unbedingter Beweis ist es nicht. Immerhin könnte man nämlich in dergleichen Fällen, wenn man die Körnchen als Chromidien auffaßt, für das Größerwerden der ausgetretenen Chromatinpartikelchen in gewisser Entfernung von der Kernmembran nicht das Zusammenfließen derselben, sondern eine eigene Assimilations- und Wachstumsfähigkeit annehmen.

v. Kemnitz stützt sich anderseits bei Beurteilung der Bestimmung der Phosphatidvacuolen auf die Hertwigsche Kern-Plasmarelation, und als logisches Postulat stellt er bei *Ascaris*-Muskelzellen auf, daß eine Kernvergrößerung und damit eine Chromatinneubildung unumgänglich sei, denn die *Ascaris*-Muskelzellen vermehren sich ja bekanntlich nicht durch Teilung, sondern wachesn ohne Teilung bis zu einer bestimmten Maximalgröße heran, wobei natürlich der Kern entsprechend mitwächst (S. 561). Das wäre das funktionelle Kernwachstum Hertwigs, wo also die Phosphatidvacuolen in Zusammenhang mit dem durch das Wachstum der ganzen Zelle bedingten Wachstum des Kernes stehen (S. 583). — Diese Gründe veranlassen ihn, den analogen Schluß auf die zum Riesenwachstum bestimmten Eizellen zu ziehen.

Mit welchem Recht man die Eizellen, als omnipotente, zum Zustandebringen neuer Organismen fähige und weiterhin die von v. Kemnitz herangezogenen Furchungszellen (S. 560, 561) als durch hochgradige Teilungsfähigkeit ausgezeichnete indifferente Zellen mit hochgradig einseitig differenzierten Zellen, die ihre Teilungsfähigkeit völlig verloren haben, vergleichen kann, will ich nicht näher untersuchen.

Es sei mir aber die Bemerkung erlaubt, daß uns keine Gründe zwingen, für ausschließlich anzunehmen, daß im Kern die Chromatinregeneration oder Vermehrung auf Kosten der so kompliziert zusammengesetzten und morphologisch darstellbaren Stoffe, wie es Lecithine, bzw. Phosphatide sind, geschehen muß. Wir dürfen auch daran denken, daß das Chromatin als etwas hochgradigst Lebendes eine solche Assimilationsfähigkeit besitzt, daß es sich leicht auch aus nicht so komplizierten Molekülen, die im Gegensatz zu den Lecithinen morphologisch noch nicht leicht darstellbar sind, regeneriert. Auf diese Gedanken bin ich nicht ohne Grund gekommen, denn ich

darf darauf hinweisen, daß die Organismen, die extracellulär verdauen, die zur Nahrung dienenden Stoffe mit komplizierten Molekülen zuerst abbauen, um sie als allereinfachste Spaltungsprodukte zu assimilieren. Und wenn ich da den Kern in Hinsicht auf seine Ernährungsverhältnisse im allgemeinen mit solchen Organismen vergleiche, stütze ich mich darauf, daß beide von der schon zur Assimilation fertigen Nahrung mit einer semipermeablen Membran getrennt sind.

Wenn es sich dennoch einmal als unzweifelhaft und als weit verbreitet herausstellen sollte, daß im Zellkörper wirklich eine morphologisch verfolgbare Prochromatinsynthese (wohlgemerkt nicht eine echte Chromatinsynthese) stattfindet, dann wird damit immer noch nicht nachgewiesen sein, daß eine Chromatinabgabe seitens des Kernes nicht stattfinden kann. Meines Erachtens bleibt sogar die Möglichkeit, daß beide Erscheinungen nebeneinander bestehen können, solange offen, bis es nicht nachgewiesen ist, daß das Protoplasma selbst Chromatin bilden kann. Man muß nämlich bedenken, daß das erwähnte Prochromatin wohl eine Vorstufe des Chromatins, höchstwahrscheinlich aber keine Abbaustufe desselben sein könnte. Das Prochromatin soll nämlich zum Aufbau des Chromatins dienen[1]). Könnte nun das Chromatin eine Verbindung, die mit seinen Abbauprodukten identisch ist, zum Aufbau verwenden, dann braucht es eine solche nicht außerhalb seines Territoriums zu beziehen, weil es ihm auch innerhalb des Kernes zur Verfügung steht. So kann das abgegebene und abgebaute Chromatin als von dem Prochromatin abweichend eine besondere Aufgabe im Protoplasma leisten. — Schwerlich können wir aber diese Erklärung zugunsten des Chromidiums heranziehen, wenn im Zelleib echtes Chromatin entstehen kann. Das abgegebene Chromatin oder eine Abbaustufe desselben wäre dann für den Zelleib von keiner besonderen Bedeutung, nur für den Kern könnte die Chromatinabgabe von Nutzen sein als ein regulatorischer Vorgang (R. Hertwig). Es ist aber noch gar nicht nachgewiesen, daß eine echte Chromatinsynthese im Plasma stattfinden kann, und es ist auch sehr unwahrscheinlich.

Den Grund dafür, warum ich eine echte Chromatinsynthese — ein Punkt, den v. Kemnitz nicht betont — im Zellkörper für sehr unwahrscheinlich halte, und warum meiner Auffassung nach echtes Chromatin außerhalb des Kernes und also ohne Mitwirkung des schon gewesenen Chromatins nicht zustande kommen kann, zeigen uns die Protozoenversuche, wo der abgeschnittene kernlose Teil nie seinen Kern, also sein Chromatin regenerieren kann. Ich glaube, ein generelles Prinzip darin erken-

[1]) Zum Aufbau also einer Substanz, von welcher man annimmt, daß sie während der Kernfunktion abgebaut wird.

nen zu können, daß der Kern, vielleicht das Chromatin selbst, die autonome Fähigkeit hat, sich selbst quantitativ zu bestimmen, und ein bei den Teilungen erscheinendes gesetzmäßiges Chromatinquantum hervorzubringen. Diese Autonomie ist morphologisch vielleicht durch die Anwesenheit einer Kernmembran ausgedrückt. Die Kernmembran macht den Kern gewissermaßen von dem Zellkörper unabhängig, wobei sie wahrscheinlich den Kern in seiner inneren Arbeit vor gewissen Zellkörperbestandteilen hütet. Und es ist anzunehmen, daß diese Absonderung des Kernes gerade im Interesse alles dessen, was sich um das Chromatin handelt, zustande kommt. Die Kernmembran hütet nicht nur die Interessen des Kernes gegen gewisse colloidale Protoplasmabestandteile, sondern sie selbst ist die Bedingung dafür, daß zwischen Kern und Zelleib ein gesetzmäßiger Stoffaustausch aufrecht erhalten werden kann. Wie der Kern die Reorganisationsfähigkeit der Zelle beherrscht, ist noch unbekannt. Wahrscheinlich ist es aber, daß die Anregung zur Assimilationsfähigkeit so vor sich geht, daß der Kern in seinem geschlossenen Raum, gewissermaßen als eine Drüse einfach zusammengesetzte Stoffe bereitet und sie an den Zellkörper abgibt.

Was weiter das funktionelle Kernwachstum anlangt, so müssen wir diesbezüglich die Frage, da uns nicht der Kern, sondern das Chromatin interessiert, so aufstellen, ob das funktionelle Kernwachstum oder im allgemeinen ein Kernwachstum unbedingt einen Chromatinzuwachs bedeutet. Nämlich das von v. Kemnitz bei *Ascaris* festgestellte funktionelle Kernwachstum hat nur dann eine Beweiskraft für die Prochromatinfrage, und es ist nur dann zu verallgemeinern, wenn die Frage in ihrer vorher aufgestellten Form ohne Ausnahme bejaht werden kann. Und das ist nicht eine ausnahmslose Tatsache. Dagegen, daß das Kernwachstum nicht zugleich die Zunahme der Chromatinmasse bedeutet, sprechen vor allem die großen Ganglienzellen des Tierreichs mit entsprechend großem Kern, aber mit ihrer allgemein bekannten Chromatinarmut. Dieser Umstand hatte eben die Forscher zu der Annahme geführt, daß das Tigroid als das auf Kosten des Kernes zustande gekommene Chromatin (Somatochromatin, Apáthy [1.]) aufzufassen ist. Gerade auch bei *Dendrocoelum* haben wir zwei ausgezeichnete dagegen sprechende Beispiele. Auch in den großen motorischen Ganglienzellen der lockeren Cerebralcommissura (commissura cerebralis dispersa) befinden sich Kerne, die an Größe gar nicht hinter denen der Eizellen zurückstehen, aber außerordentlich chromatinarm sind. Dann ist das gleiche in den riesigen Zellen des Oviducts der Fall, welche manchmal zehnmal so groß sind, wie eine erwachsene Eizelle, ihr Kern aber ist nicht größer als der der leptotänen Ovocyten,

und man kann in ihnen außer den Nucleolen kaum etwas bemerken. — Was die *Dendrocoelum*-Eizellen selbst in dieser Hinsicht anlangt, so ist dort der Kerndurchmesser einer erwachsenen Ovocyte viermal so groß als der eines erwachsenen Ovogoniums und mehr als zweimal so groß als der von einer leptotänen Ovocyte und beinahe zweimal so groß als der in der diplotänen Ovocyte. Der Kern wird also auch in der zweiten Wachstumsperiode doppelt so groß wie er vorher war. Und während dieser letzten Verdoppelung der Kerngröße in der zweiten Wachstumsperiode können wir so gut wie gar nichts von Chromatinvermehrung bemerken. Ja, wenn es sich in Bukettstadien um mitotische Erscheinungen handelt, dann müssen wir gerade deshalb annehmen, daß bis zu dieser Zeit das Chromatin seine Maximalmenge erreichen müßte, und daß wir von nun an nur von einer Aktivierung, von einem Übergehen in gekörnelten Zustand, aber nicht von Vermehrung des Chromatins sprechen können. Also, soviel steht bestimmt fest, daß hier die Kerngrößeverdoppelung ohne Chromatinvermehrung zustande kommt. Wie ich schon weiter oben beschrieben habe, bleibt gewissermaßen auch die Aktivierung, d. h. die Verkörnelung im *Dendrocoelum* aus, da das Chromatin in den Ovocyten immer in gebundener Faserform verbleibt.

Abgesehen von den obigen Tatsachen, zwingen mich die in den *Dendrocoelum*-Eizellen erhaltenen Bilder speziell ganz und gar nicht anzunehmen, daß es sich hier um Prochromatinbildung handeln könnte. Das massenhafte Auftreten des vermeintlichen Prochromatins, also meiner Chromidien, fällt in die zweite Wachstumsperiode, wo ich keine Durchtrittsbilder gefunden habe, wo wir diese aber unbedingt sehr oft finden müßten, wenn es sich um Prochromatineinwanderung handelt. Der Chromatinaustritt geschieht aber im Bukettstadium, wo nur noch einige große Granula im Zellkörper zu sehen sind. Das Austreten des Chromatins geschieht weiterhin von den Chromosomenenden aus, ein Prochromatin aber könnte ja überall in den Kern hineintreten. Ein Teil der von mir beschriebenen Granula schließt sich zur Vergrößerung des Centriols an; das widerspricht aber dem Begriffe des Prochromatins.

Obschon v. Kemnitz auf S. 585 sich ziemlich entschieden dahin ausspricht, daß in einer ganzen Reihe von Fällen, die im Sinne der Chromidienlehre verwertet wurden, tatsächlich der umgekehrte Prozeß stattfindet, gibt er selbst zu, daß eine Chromatinabgabe während des Bukettstadiums erfolgt (S. 586), und daß in einigen Fällen durch direkte Beobachtungen eine echte Chromidienbildung in Ovocyten wahrscheinlich gemacht worden ist (S. 580, 581). Er hält selbst die Behauptung der Mitochondrienforscher, daß Chromidienbildung überhaupt nicht vorkommt, für unrichtig (S. 586).

Zum Schlusse möchte ich noch bemerken, daß es mir scheint, als ob v. KEMNITZ unsere tinktoriellen Methoden im Gegensatz zu den physiologisch-chemischen zu sehr unterschätzte. Er hat recht, wenn er die Specificität und beweisende Kraft den einzelnen Chromatinfarbstoffen (außerhalb des Kernes) abspricht (S. 578—580, 587), er hat besonders recht, wenn er nachdrücklich betont, daß man sich nicht bloß auf Eisenhämatoxylinpräparate stützen darf (S. 578) und wenn er mehr Kritik bei Beurteilung der auf tinktoriellem Wege erhaltenen Resultate empfiehlt. Ich möchte aber den Satz: »Es bleiben daher nur (von mir gesperrt) die genetischen Beziehungen zum Kern, d. h. direkte Beobachtungen von Chromatinaustritt im Verein — zum mindesten im Zweifelsfalle — mit unzweideutigen mikrochemischen Reaktionen als Kriterium dessen, was man als Chromatin zu betrachten hat« (S. 578, 579) und Äußerungen, welche sagen wollen, daß Untersuchungen über Chromidien mit der Existenz eines »specifischen Chromatinfarbstoffs stehen und fallen«, — in ihrer Tragweite näher prüfen. An dem zitierten Satz ist wahr, daß wir mit Lösungs- und Verdauungsversuchen über Chromatin und Nichtchromatin entscheiden können. Wir müssen aber fragen, stellen die Chromidien — die, welche aus dem Kern stammen — überhaupt Chromatin dar oder nicht? Schon GOLDSCHMIDT, dem ich nur zustimmen kann, hat sich dahin geäußert, daß das ausgetretene Chromatin nach seiner Funktion gründlichere oder geringere Umwandlungen und einen Abbau erfahre, v. KEMNITZ geht sogar weiter und sagt, es braucht nicht einmal das die Kernmembran passierende Chromatin echtes Chromatin zu sein (S. 565, 566, 582). Damit ist aber zugleich ausgesprochen, daß wir mit mikrochemischen Lösungsversuchen keine Beweise gegen die Chromidialnatur der vermeinten Gebilde erbringen können. Diese Versuche beweisen bei v. KEMNITZ nur das, daß die von ihm untersuchten Zellorgane kein Chromatin darstellen, aber sie sind keine Beweise dagegen, daß die genannten Gebilde aus Kernchromatin stammen. Sie geben nur eine Veranlassung dazu, daß man aus der originalen R. HERTWIGschen Fassung des Chromidiumbegriffes die echte Chromatinnatur ausschalten soll.

Ist nun weiterhin ein Chromatinaustritt stichhaltig feststellbar?

Wir wissen ja, daß Vorgänge, wie das Chromatinaustreten, Erscheinungen des Lebens sind, und deswegen der direkten Beobachtung nur in der lebenden Zelle zugänglich sind. Solche Beobachtungen wären im Grunde deswegen notwendig, weil eben auch die Möglichkeit des umgekehrten Weges aufgeworfen wurde. Sie aber auszuführen, steht, glaube ich, derzeitig außerhalb unseres Könnens. Wohl können wir in dem toten Material die sehr nahen topographischen Beziehungen zwischen Kern-

chromatin und Chromidium feststellen; wohl können wir durch stützende Erklärungen die von uns angenommene Richtung der Chromatinwanderung höchstwahrscheinlich machen, aber die Möglichkeit des umgekehrten Weges vollständig auszuschließen, vermögen wir nicht, weil beide in Rede stehenden Elemente: Chromidien und Prochromatin, sich chromatisch färben und für beide eine genetische Beziehung zum Chromatin behauptet wird. Daraus folgt aber, daß auch die Prochromatinfrage mit genau derselben Schwierigkeit zu rechnen hat.

Wir sehen also, daß wir durch mikrochemische Lösungsversuche nicht entscheiden können, ob Chromidien vorliegen oder nicht; wir sehen, daß die an Schnitten festgestellten genetischen Beziehungen zwischen Kernchromatin und chromatischen Gebilden des Zellkörpers Anlaß zu zwei einander entgegengesetzten Annahmen über die Wanderung der betreffenden Stoffe geben. Es bleibt uns nun als Aushilfe doch der gewöhnliche Weg der mikroskopischen Untersuchung: die Tinktion übrig. Von den chromatischen Farbstoffen steht aber fest, daß sie verschiedene, nicht chromatische Elemente des Zellkörpers chromatisch färben. Die Chromatizität der Kernfarbstoffe ist aber nur bezüglich des Kernes eindeutig, außerhalb des Kernes färben sie dagegen nicht alles in der Weise und Farbe chromatisch, wie im Kern. Und das ist eben der Ausweg, der uns zum Ziele führt, weil so die Gruppe der Kernfarbstoffe auf Zellkörperelemente verwendet in Untergruppen zerfällt, wodurch wir nun einen Schlüssel in der Hand haben, um verschiedene chromatische Elemente des Zellkörpers zu unterscheiden und unsere Chromidien von einem vermeintlichen Prochromatin isolieren zu können. So habe ich z. B. die Randkörnchen der Eizellen nach ihrer Chromatizität früher zu den Chromidien gerechnet. Später habe ich aber mittels Boraxcarmin und Flemmings Dreifachfärbung ihr abweichendes Verhalten gefunden, weshalb ich sie von den andern trennen mußte.

Sonst hat v. Kemnitz selbst gezeigt, inwiefern man bei derartigen Untersuchungen auf tinktorielle Verhältnisse verzichten kann. Er selbst stützt sich bei seiner Prochromatinfrage — abgesehen von der Loebschen Annahme, daß nämlich die Synthese der phosphorsäurehaltigen Nucleoproteiden am leichtesten aus den phosphorsäurehaltigen Lecithinen sich ableiten läßt — ebenso auf färberische Verhältnisse, wie die Chromidienforscher. Sein Prochromatin als Phosphatid hat ein ebensolches Reduktionsvermögen gegen Osmiumtetraoxyd, wie gewisse Kernbestandteile (S. 560, 561), es färbt sich als Pseudochromidium durch Mallorys Magenta-Pikroindigcarmin und Delafield-Färbung genau so, wie das Kernchromatin (S. 562). Und weiter färbt es sich nach ihm bei Reiche-

NOW als Volutin beschriebenes und von ihm als Plasmagebilde aufgefaßtes Prochromatin mit Boraxcarmin und DELAFIELDS Hämatoxylin, Safranin, Azureosin und Cochenillealaun wie eine Chromatinsubstanz.

Will v. KEMNITZ die stützende Kraft dieser tinktoriellen Angaben bei der Prochromatinfrage aufrecht erhalten, so muß er das auch bei den Chromidien zugeben. Will er aber das bei der Chromidiumfrage suspendieren, so erhebt sich die Frage, ob diese in den Kern eintretenden morphologisch unterscheidbaren Elemente sich nicht in Chromatin, sondern in andere Kernbestandteile (z. B. sagen wir in Linin) umwandeln. Und damit habe ich wirklich eine Frage angeschnitten, mit der die Lecithin-Prochromatinanhänger bei ihren Beweisführungen rechnen müssen.

Das Centriol und seine Strahlung.

In den Ovocyten der zweiten Wachstumsperiode erscheint ein stäbchenförmiges Centriol in der Kernnähe dort, wo sich die größere Protoplasmamasse befindet, und entwickelt eine mächtige Strahlung. Ein Centrosom bildet sich nicht aus. Von einer Persistenz des Centriols kann ich nichts berichten, denn ein Centriol läßt sich ohne Strahlung von den sich ebenso färbenden Chromidialgranula nicht unterscheiden.

MATTIESEN glaubt bezüglich des *Dendrocoelum* annehmen zu dürfen, »daß es sich in dem in Fig. 17 seiner Arbeit abgebildeten Stadium tatsächlich um das erste Sichtbarwerden des Centrosoms handelt« (S. 293, Taf. X). Gekennzeichnet sind dergleichen Zellen dadurch, daß ihr »Plasma sich besonders intensiv gefärbt hatte und deren Kernmembran wellig und geschrumpft erschien, während dieselbe bei allen übrigen Eiern desselben Ovariums vollkommen prall war«. Selbst in der in Fig. 17 abgebildeten Zelle war der Kern »tief schüsselförmig eingedrückt«. MATTIESEN hat, wie er auf S. 275 gesteht, zu seinen Untersuchungen in erster Linie *Planaria torva* und nur nebenbei auch *Dendrocoelum* benutzt. Aber wie es mir scheint, stammen seine sämtlichen Beobachtungen bezüglich der Herkunft und Umwandlung des Centrosoms doch von *Dendrocoelum*-Eizellen. Da er das *Dendrocoelum* nur nebensächlich zur Untersuchung benutzt, ist es zu verstehen, daß er die Verhältnisse in den Eizellen dieses Tieres nicht genau kennt. Alle Kennzeichen nämlich, die er von diesen *Dendrocoelum*-Eizellen angibt, von denen er Centrosoma und Strahlung beschreibt und zeichnet: das intensiv gefärbte Plasma, die wellige, geschrumpfte Kernmembran, der schüsselförmige Kern (Fig. 17) und die grobfädige Struktur des Eiplasmas, beziehen sich auf pathologisch veränderte Zellen. Selbst die in Fig. 17, 21, 22, 23 gezeichnete Sphärenstrahlung weist auf pathologische Zustände hin; denn man kann eine so scharfe Strahlung

nach heißer, »beinahe kochender« Sublimatfixierung mit Heidenhains Eisenhämatoxylin, wie die zu diesen Bildern dienenden Präparate hergestellt waren, nur an pathologischen Zellen sichtbar machen, während an gesunden Zellen nach dieser Behandlung nur mit großer Mühe eine blasse strahlige Streifung zu unterscheiden ist. Diese in der erwähnten Weise sichtbar gewordene Strahlung hätte sonst als etwas Ungewöhnliches auch Mattiesen auffallen müssen, denn S. 300 bemerkt er selbst sehr richtig von den Spindelfasern der zweiten Reifeteilung, »daß auch hier auf meinen Schnitten keine Spindelfasern zu sehen waren, ist möglicherweise auf die Konservierung mit heißem Sublimat zurückzuführen.«

Bei der Untersuchung des ersten Auftretens des Centriols können wir aus der dazu sonst so geeigneten Heidenhainschen Eisenhämatoxylinfärbung bei unserem Objekt nicht viel Nutzen ziehen, denn mit dieser — auch bei der Bordeauxrotvorfärbung — verhalten sich Centriol, chromatische Granula und Nucleolus gleich, sie sind gleich stark gefärbt und verblassen auch gleichzeitig. Und man sieht noch dazu nicht selten auch stäbchenförmige chromatische Granula, welche ganz so aussehen, wie ein Centriol. Der einzige Umstand, der mir bei der Centrioluntersuchung von Nutzen war, war der, daß in Mitochondrienpräparaten das Cytocentrum und seine Sphäre frei von Mitochondrien ist, und daß also das Centriolum in Mitte eines hellen Hofes als mitochondrienähnlich sich färbendes Stäbchen erkennbar ist.

Den mit der Ovogenese beschäftigten Forscher soll das erste Auftreten des Centralkörpers hauptsächlich deswegen interessieren, weil von Buchner in einer zusammenfassenden Arbeit [2.] nachgewiesen wurde, daß einerseits das Centriol eine richtende, ziehende Kraft auf das Kernchromatin — auch noch im Ruhekern — ausübt, und daß anderseits in vielen Fällen ein Centriol im Bukettstadium beschrieben ist, welches immer dort steht, wohin die Chromosomenschleifen gerichtet sind. Er weist weiter darauf hin, daß das Centriol eine anziehende Kraft sowohl auf die Mitochondrien als auch auf die Chromidialgranula ausübt. (Letzteres wird von ihm schon in einer früheren Arbeit [1.] S. 400 erwähnt.)

Wie ich später beschreiben werde, ist eine Anziehungskraft auf Chromidialgranula bei mir an sehr klaren Bildern schön nachweisbar. Ich konnte aber ein Centriol während des Buketts nicht einwandfrei nachweisen, da sich — wie gesagt — das Centriol mit Eisenhämatoxylin ebenso wie die Chromidialgranula färbte. Das spricht aber gar nicht gegen Buchners Annahme bezüglich der richtenden Kraft des Centriols, denn auch bei mir wird später das Centriol durch seine Strahlung auf der Seite sichtbar, wohin die Bukettschleifen gerichtet waren. Wir müssen uns nämlich

darüber klar sein, daß unser Ovocytenkern ein apolares Gebiet ist. Die Schleifen sind zwar auf ein enges Gebiet der Kernwand gerichtet, aber vor allem gegen das Protoplasma. Das Gebiet des Protoplasmas ist aber heteropol. Und das einzige Organ, was diese Heteropolarität bestimmt und ausübt, ist das Centriol. Wie gesagt, kann ich es erst dann nachweisen, wenn es seine Sphäre schon hat. Es ist aber möglich, daß während des Buketts eins von den sich chromatisch färbenden Granula als Centriol (ohne Hof und Strahlung) fungiert. Eines kann ich doch nicht verschweigen, nämlich das, daß ich manchmal gar keine chromatischen Granula in der Nähe von den Chromosomenenden im Zellkörper gefunden habe, sondern sie waren alle beiseite gerückt. Und dabei kann ich mich auf die schon weiter oben beschriebene, von mir angenommene Art des Zustandekommens der Orientierung berufen. Wie ich es schon dort erwähnt habe, sind die Chromosomen in den heteropolen Zellen auf die Seite gerichtet, wo sich die überwiegende Protoplasmamasse befindet, wo zugleich auch bei mir die auffallende Vermehrung der Mitochondrien stattfindet. Nach dieser Richtung schauen aber die Chromosomen schon in der Telophase der letzten Ovogonienteilung in ihrem Kelchstadium, so daß wir uns das Zustandekommen des Buketts schon durch Auflockerung und Abströmung auf die gegenseitige Wand des sich neu bildenden Kernes vorstellen können. Weil doch die Wirkung des Centralkörpers in der Orientierung nicht ausgeschaltet werden kann, müssen wir eine Neubildung für das Centriol in der Ovocyte annehmen, denn in der Telophase der letzten Ovogonienteilung verschwindet das alte Centriol mit seiner Strahlung so spurlos, daß ich nichts mehr davon wahrnehmen konnte.

Bei mir fällt das Sichtbarwerden des Centriols und seiner Strahlung immer mit der Auflösung des Buketts und der Spaltung der Chromosomen zusammen. In einigen Fällen konnte ich schon am Ende des Buketts, wo die Doppelchromosomen ihre definitive Länge schon erreicht haben, das Auseinandergehen der Mitochondrien von einem Platze wahrnehmen, aber dort konnte ich leider noch kein Centriol feststellen.

Wenn es wahr ist, daß die Chromosomen durch das Centriol gerichtet werden, so bleibt doch eines unerklärt: wie können sich denn die Chromosomen aus ihrem gebundenen Zustande bei fortwährender Anwesenheit des Centriols, des anziehenden Faktors, eben dann lösen, wenn es in seinen eigentlichen aktiven Zustand eintritt, das heißt, wenn es seine Strahlung entwickelt?

In den folgenden Zeilen wende ich mich nun zur Beschreibung des Centriols und seiner Strahlung.

Fig. 25 zeigt ein Bild mit einem jungen Centriol und Sphäre, wo

nach der Auflösung des Buketts die Chromosomen in ihrem ersten strepsitänen Zustand sich eng unter der Kernmembran anordnen. Im Hof sieht man an Mitochondrienpräparaten keine so scharfen Fibrillen, wie ich sie gezeichnet habe, sondern nur eine feine radiäre Streifung. An Ehrlich-Biondis Triacidpräparaten konnte ich aber auch in diesem Zustande die Fibrillen gut unterscheiden. Das anfänglich nur ein wenig längliche Centriol wird stäbchenförmig (siehe Fig. 31; in Fig. 30 steht es senkrecht zu dem Gesichtsfeld), wie es auch Mattiesen beschreibt. Ein Centrosoma aber tritt in gesunden Zellen während der Wachstumsperiode nie in Erscheinung; es entwickelt sich erst während der Vorbereitung zu den Reifeteilungen. Das stäbchenförmige Centriol steht verschieden zur Kernoberfläche. Am häufigsten steht es senkrecht dazu, wie in Fig. 31; Fig. 30 zeigt ein damit parallel stehendes Centriol.

Vom Centriol ausgehend, bildet sich langsam während des Zellwachstums eine riesig große Strahlung. Arnold hat sie in seiner Fig. 13 auf Taf. XXII nicht in ihrem völlig entwickelten Zustande gezeichnet. Einige Strahlen sind so lang, daß sie, wie das in meiner Fig. 30 u. 31 zu sehen ist, auch auf den entgegengesetzten Pol hinübergreifen. Die einzelnen Strahlen sind nicht gerade ausgespannt, sondern sie sind geschlängelt.

Diese mächtige Strahlung ruft in dem Zellkörper eine fädige Struktur hervor, was besonders nach solchen Fixierungen scharf hervortritt, bei welchen viel vom Zellkörper aufgelöst wird, wie z. B. nach meinem Formol-Salpetersäuresublimat. Auch Böhmig beschreibt bei *Procerodes ulvae* (S. 455) in Eizellen eine fädige Struktur mit aus Körnchenreihen bestehenden Fibrillen. Diese Fibrillen sind dort spindelförmig und im allgemeinen konzentrisch angeordnet. Schon in meiner ungarischen Arbeit habe ich darauf hingewiesen, daß diese Struktur nicht die des Protoplasmas ist, daß uns in spindelförmigen Fädchen nicht ein in dieser Weise strukturiertes Protoplasma entgegentritt. Sondern, was fädig in der *Dendrocoelum*-Eizelle ist, das gehört zur Strahlung des Centriols. Eine echte fädige Struktur des Protoplasmas müßte an in jeder beliebigen Richtung durchgeschnittenen Zellen gleicher Größe immer zu sehen sein. In gesunden erwachsenen *Dendrocoelum*-Eizellen aber bekommt man nie eine fädige Struktur in solchen Zellen, welche senkrecht auf die durch das Centriol bestimmte Achse, in ihrer Äquatorialebene also senkrecht auf die Strahlen geschnitten sind. In jedem mit dieser Achse parallelen — also in der Richtung des Verlaufes der Strahlung getroffenen — Schnitte der Zellen kommt aber die fädige Struktur zum Vorschein.

Wenn wir jetzt nach dem Wesen der einzelnen Strahlen fragen, so stehen wir nach der Auffassung der Forscher vor zweierlei Möglichkeiten.

Einerseits können die Strahlen differenzierte Fibrillen sein, anderseits nur Protoplasmastrahlen, welche durch Hinströmung oder entsprechende Anordnung des Protoplasmas zustande kommen, und durch eingelagerte Körnchen sichtbar werden. Nach meiner Auffassung haben wir im allgemeinen kein Recht, diese Strahlung als durch Strömung zustande gekommen aufzufassen, da die Natur nur solche Strömungen kennt, welche in kreisförmigen, in sich zurückkehrenden und nicht an beiden Enden abgeschnittenen Linien verlaufen; und weiterhin ist eine von jeder Richtung zu einem Punkt hinlaufende Strömung schwer vorstellbar. Wir dürfen und können vielleicht nur von einer strahligen Anordnung des Protoplasmas unter Wirkung des tätigen Centriols sprechen. Wir müßten dann aber in unserer Eizelle innerhalb des ungeformten Protoplasmas ein wohlgeformtes annehmen, denn es sind die einzelnen Strahlen da so scharfe, individuelle Fäden, daß sie an gelungenen Präparaten ohne jede Mühe vom Protoplasma unterscheidbar sind. Sie sind auch insofern individualisiert, als sie dem Begriff Strahlen nicht streng folgend, nicht nebeneinander laufen, sondern einerseits geschlängelt sind, und anderseits in einiger Entfernung vom Centrum gewissermaßen übereinander und sich durchkreuzend verlaufen. Besonders auffallend ist aber die Strahlung in den pathologisch veränderten Zellen, wo mehrere Centren auftreten (siehe Mattiesen S. 295, 296, Taf. X, Fig. 22a, 23), und die dort ziemlich steifen Fäden von verschiedenen Centren ganz durcheinander laufen. Oder man erhält sogar solche Bilder, wo kreuz und quer verlaufende Fäden ohne Centren auftreten.

Stechen wir während der Zerzupfung eine Eizelle so an, daß das Protoplasma quer auf die Richtung der Strahlen aus der Zelle ausfließt oder im allgemeinen zerfließt, dann verschwinden die Strahlen gar nicht, sondern treten im Gegenteil noch schärfer hervor, was wir uns von reinen Protoplasmastrahlen schwer vorstellen können. Diese hochgradige morphologische wie substantielle fädige Individualisierung des Protoplasmas kann aber nur dann zustande kommen, wenn gewisse, aber nicht jede Elementarteile des Protoplasmas sich von ihrer Umgebung ausscheiden, und sich zum Zustandebringen der Strahlung in Linienrichtungen vereinigen. Das ist aber nach der Lehre meines Lehrers Apáthy der Weg der Differenzierung, wodurch die Elementarorgane der Zellen zustande kommen. Also es sind auch in dieser Hinsicht die einzelnen Strahlen in der Strahlungsfigur der *Dendrocoelum*-Eizellen entschieden differenzierte Fibrillen. Das körnige Aussehen der Fibrillen kann während der Fixierung durch körnige Niederschläge zustande kommen, oder es mag auch ein natürlicher Zustand sein, denn die körnigen Elemente neigen dazu, an den

Fibrillen zu adhärieren, wie das z. B. v. Kemnitz von Glykogenkörnchen nachgewiesen hat.

Auch Vejdovský ([1.] S. 84) nähert sich gewissermaßen dieser Deutung der Strahlen, indem er folgendes sagt: »Es ist einleuchtend, daß das ursprüngliche zähflüssige Hyaloplasma, aus welchem die Strahlen bestehen, nach gewisser Dauer erstarren und daß jeder Strahl sich zu einer Fibrille umbilden kann.«

Mattiesen beschreibt (S. 293—298) noch eine weitere Veränderung des Centriols und seiner Strahlung vor der Reifeteilung. Nach ihm »rückt dieses Centrosom an die Peripherie der Zelle und tritt uns dort als ein großer, halbkugelförmiger, sich dunkel färbender Fleck, in dem besonders bei Heidenhain-Färbung um einen hellen Hof eine radiäre Strahlung sichtbar ist (Fig. 18), entgegen. An der dem Zellplasma zugewendeten Seite ist dieser Hof auffallend scharf begrenzt« (S. 293—294). Wenn ich nur mit von Kolozsvár mitgebrachtem Material gearbeitet hätte, hätte ich Mattiesens Beschreibung für wahr annehmen müssen, mit der Bemerkung, daß ich nicht das Glück hatte, diese Vorgänge nochmals zu beobachten. Aber hier habe ich an Material, das aus dem Münchener botanischen Garten stammte, reichlich Gelegenheit gehabt, dergleichen Bilder zu bekommen und mich zu überzeugen, daß Mattiesen durch ein parasitisches Protozoon irregeführt wurde. Der Parasit — den ich trotz aller Mühe nicht näher bestimmen konnte, denn ich konnte den Kern nicht absolut sicher differenzieren — sieht besonders nach Heidenhains Eisenhämatoxylin sehr verführerisch ähnlich aus wie ein Centrosom mit zugehöriger Strahlung. Ja in meiner Fig. 50 (Taf. V) war ich selbst in einem Eisenhämatoxylinpräparat nicht sicher, ob ich das im Centrum stehende Gebilde für das Centrosoma oder für den Parasit halten soll; erst das Umfärben des Präparates mit Boraxcarmin und dann wieder mit Hämatein I. A. haben mich überzeugt, daß es sich wirklich um das Centrosom handelte. Der Parasit sitzt mit Vorliebe innen der Zelloberfläche an, halb daran geplattet, wie es in Mattiesens Fig. 18, 19 und 20 vom Centrosom zu sehen ist. Die Parasiten sind gegen das Protoplasma manchmal sehr scharf begrenzt, wie das Mattiesen S. 294 und 298 von seinem Cytocentrum bemerkt (siehe bei ihm auch Fig. 19, 20), aber ein anderes Mal entwickeln sie dicht nebeneinander dünnfädige, strahlig angeordnete Pseudopodien, und verlieren in dem Falle auch ihre scharfe Begrenzung. Es mag ihre innere Struktur strahlig wie der Körper des Mattiesenschen Centrosoms sein, aber meistens sieht sie fein spongiös aus, wie auch in meiner Fig. 34, 35 zu sehen ist. Man kann bei Heidenhain-Färbung in der Mitte des Tieres einen größeren chromatischen Körper umgeben von einem hellen Hof sehen, was

Mattiesen als Centriol beschrieben hat; man kann auch zwei solche finden (siehe meine Fig. 35), was ihn zur Annahme einer Centriolenteilung geführt hat. Also mit andern Worten: es ist alles zu finden, was Mattiesen beschrieben hat. Man kann aber auch körnchenlose, sowie mit mehreren Körnchen versehene Parasiten finden. Diese Körnchen halte ich nämlich, weil die in andern Teilen des Tieres schmarotzenden Protozoen solche nicht erhalten, für aufgefressene chromatische Körnchen der Eizelle, deren Verdauung langsam vor sich geht; oder sie werden vielleicht gar nicht verdaut. — Mattiesen beschreibt auf S. 295 die Teilung seines Centrosoms; dementsprechend finden wir unsere Protozoen ebenso in Teilung. Er schreibt ferner S. 294: »Bemerkenswert ist, daß ich in zwei Fällen den Strahlenhof nicht nach dem Innern der Zelle zugewandt, sondern als Halbkugel (Fig. 18 *c*) nach außen hervorragend gefunden habe.« Dem entsprechende Bilder findet man gleichfalls sehr oft. Diese zeigen Tiere, welche eben angefangen haben, sich durch die Zellmembran durchzuarbeiten. Auffallend ist, daß in solchen Fällen der hervorragende Teil des Parasiten nach außen sich immer stärker färbt, wie der von der Zellmembran nach innen liegende Teil.

Bemerkenswert ist, daß diese Parasiten gar keine pathologischen Veränderungen in den Zellen hervorrufen. Sie vernichten das Protoplasma nicht, wie gewisse, auch in Eizellen schmarotzende *Cnidosporidia.* Mir scheint, sie nähren sich nur von Zellsäften und Ablagerungen. In ihrer Anwesenheit läuft die Reifeteilung ganz normal ab, wie es Fig. 41 zeigt. Sie geraten so auch in abgelegte Eier hinein, wie ich mich davon öfters überzeugen konnte. Im infizierten Tiere sind sie auch sonst im Organismus sehr verbreitet. Ich habe gar nicht viel nach ihnen gesucht, und konnte sie doch ohne Mühe im Dotterstock, Bindegewebe, Pharynx, Receptaculum seminis, Penis, in Darmzellen und im muskulösen Drüsenorgan (Jijima) finden.

Die besonderen Gründe, warum ich dieses Gebilde nicht mit Mattiesen für ein Centrosoma halte, obschon ich ihre zellige Natur durch Differenzierung des Kernes nicht einwandfrei nachweisen konnte, sind: ihre allgemeine Verbreitung in den infizierten Tieren, ihr Nichtvorhandensein in von Kolozsvár mitgebrachtem Material, ihr Vorhandensein neben dem gewöhnlichen wirklichen Centrosom und seiner Strahlung in ruhenden, wie in sich teilenden (Fig. 41) Zellen, weiter der Umstand, daß in einer Zelle nicht nur zwei — entsprechend den zwei Teilungscentrosomen — sondern auch drei, vier Parasiten vorhanden sein können. Gegen ihre Centrosomanatur spricht auch das, daß, wie es in meiner Fig. 41 zu sehen ist, ein Parasit nicht nur auf eine Eizelle beschränkt ist, sondern sich so legen kann,

daß sein Körper auf einmal in drei Zellen, nämlich in zwei Ei- und in eine dazwischen liegende Nährzelle, geraten kann. Ja er kann manchmal auf einmal in drei sich zusammenkeilende Eizellen und zwischen sie in die Nährzelle eindringen. Ihr Verhalten gegen Eisenhämatoxylin ist mit dem des Centrosoms sehr übereinstimmend, aber sie zeigen sich nach Apáthys Hämatein I. A. und nach nicht sehr differenziertem Boraxcarmin als von beiden sehr färbbare Gebilde, als Fremdkörper in den Eizellen.

Es spricht aber hauptsächlich der Umstand gegen Mattiesens besprochene Annahmen, daß ich das wirkliche Centriol und seine Strahlung nicht an der Zelloberfläche, sondern immer neben dem Kern an der Seite, wo sich die überwiegende Protoplasmamasse befindet, getroffen habe, und daß auch die Teilung des Centriols und die Wanderung der Teilungshälften zur gegenseitigen Aufstellung nicht an der Zelloberfläche, wie Mattiesen es angibt, sondern in nächster Nähe des Kernes abläuft.

Sonst hat auch schon Vejdovský ([1.] S. 25—28) derartige kernlose Gebilde 1907 bei *Fridericia hegemon*, *Enchytraeus humicultor* und *Mesench. flavus* beobachtet und in Fig. 25—28 (Taf. I), 34—36 (II), 54 (III), 98 (V), 123 (VI) abgezeichnet. Er bezeichnet sie als Cytoiden. Diese Cytoiden vacuolisieren sich endlich nach Vejdovský, und nach dem Zerfallen wandeln sich die in ihnen enthaltenen Vacuolen direkt zu Dotterkügelchen um. Die Tiere dienen da also zur Nahrung der Eizellen. Derartiges konnte ich an *Dendrocoelum*-Parasiten nicht beobachten.

Der Zellkörper und andre Einschlüsse desselben.

In den Tricladen-Eizellen zeigt der Zellkörper wenig Differenzierung. Mattiesen beschreibt kleine Körnchen als Dotterkoncretionen (S. 288), diese zeichnet er auch in den Fig. 17, 21—23. Sehr wahrscheinlich ist, daß diese Körnchen die oben von mir beschriebenen Chromidialgranula sind. Auch Arnold (S. 436) beschreibt bei *Dendrocoelum* in der Umgebung des Kernes Dotterkörnchen, welche in seinen Fig. 11, 12, 14, 15 als helle Bläschen dargestellt sind. Diese hätten auch mir nach Osmiumfixierungen mit Eisenhämatoxylin oder mit Flemmings Dreifachfärbung (was ich auch in der Weise, wie Arnold mit Methylenblau statt Gentianaviolett ausgeführt habe) zu Gesicht kommen müssen, aber ich habe statt dessen nur Vacuolen gefunden. Ebenso erwähnt auch Böhmig in Seetricladen-Dotterkörnchen (Taf. XV, Fig. 10 *Kö*) und auf S. 455—456 ein Dotterkernlager (Fig. 5, 8—11 und 13).

In *Dendrocoelum* konnte ich keine Dotterkörnchen nachweisen.

Abgesehen von den beschriebenen Chromidialgranula, dem Centriol und der Strahlung konnte ich noch als geformte Elemente die Mito-

chondrien, gewisse kleine oberflächliche, lichtbrechende Körnchen — welche ich nach ihrer Lage als Randkörnchen bezeichnen werde — unterscheiden. In meiner ungarischen Arbeit hatte ich (S. 210) noch gewisse Körperchen als Mikrosomen beschrieben. Außerdem findet man in den Eizellen als Nährstoffablagerungen Glykogen und sehr selten fettartige Gebilde.

Die Form der Eizellen ist nur mit warmen Fixierungsflüssigkeiten vollständig beizubehalten. Diese empfiehlt auch schon Mattiesen (S. 276). Das Protoplasma der Eizellen ist so weich und so flüssig, daß es z. B. der eindringende Alkohol vor sich herschiebt und in dem von der Eizelle ausgefüllten Raum halbmondförmig koaguliert. Die minder energisch wirkenden und langsamer eindringenden Flüssigkeiten aber, wie die Sublimatgemische und Zenkersche Flüssigkeit rufen in den Eizellen Zusammenziehung, ja sogar unregelmäßige Schrumpfung hervor, was in den Präparaten sich darin offenbart, daß die Zellen die sie umgebenden Hüllgewebe nicht ausfüllen. Ein prall ausgefülltes Ovarium bekommt man nur nach warmen (40—50° C) Fixierungen (Sublimat 7—10% und hauptsächlich Zenkersche Flüssigkeit). Zugleich erhalten diese am besten die Kernform, Osmiumgemische aber die Kerngrundsubstanz. Nach diesen aber ist die Zellkörperstruktur von koagulierten eiweißartigen Substanzen so bedeckt, daß andere Fixierungen unvermeidlich sind.

Welche Struktur wir dem Zellkörper zuschreiben sollen, ist schwer zu entscheiden. Eine fädige Struktur kommt zum Vorschein durch die Strahlenfibrillen des Cytocentrums, das ist aber, wie gesagt, keine Struktur, sondern eine Differenzierung des Protoplasmas. Dieses fibrilläre Aussehen kommt nicht in jedem beliebigen Schnitt vor, sondern nur an Schnitten, die in der Richtung des Strahlengangs geführt sind. Eine sogenannte Zellkörperstruktur muß aber an jedem Schnitt sichtbar sein. — Einer allgemeinen Verbreitung in den Eizellen erfreut sich die alveolare Struktur; die Bedingungen dafür sind aber dichte Ablagerungen von Flüssigkeitstropfen, Körnchen, und solche findet man nur selten und zerstreut in unseren Eizellen. Das Glykogen ist äußerst feinkörnig und kommt nicht in Vacuolen, sondern an das Plasma gebunden vor. Man sieht den Zellkörper überall äußerst fein spongiös, hier und dort breiartig gekörnelt, indem nur in der Kernnähe einzelne Bläschen auftreten. Es ist möglich, daß auch diese nicht präexistieren, sondern nur während der Fixierung von dem Kern ausgetretene Flüssigkeit darstellen. Diese einzelnen Alveolen, welche sehr oft ganz dicht an der Kernmembran ansitzen, sind sowohl nach warmen als nach Osmiumfixierungen zu sehen. Manche von diesen sind scharf konturiert. — Die spongiöse Struktur ist noch feiner, als ich sie in Fig. 30 zeichnen konnte. Die kalten Flüssigkeiten verursachen besonders an der

Oberfläche eine rohe Veränderung dieser Struktur, wie das in Fig. 36 zu sehen ist; demzufolge kommt dann eine dichtere Zone des so zusammengeschobenen Protoplasmas zustande. Beides ist Artefakt. Bei einer gewissen Art pathologischer Veränderung wird der feine spongiöse Zustand zerstört und in einen rohen, beinahe gerüstartigen verwandelt (Fig. 53 *A*).

Wenn ich mich des Ausdruckes: Protoplasmastruktur enthalten habe und statt dessen von Zellkörperstruktur gesprochen habe, so hat das seinen Grund darin, daß ich nach der Lehre Apáthys das Protoplasma für strukturlos halte. Nach Apáthy ist jedes dem Protoplasma zugeschriebene strukturelle Bild als sekundäre Anpassung des Protoplasmas an die räumlichen Verhältnisse, welche die in ihm sich anhäufenden nicht protoplasmatischen, beliebig geformten Körper bedingen, also als negatives Bild aufzufassen. Das *Dendrocoelum* ist dafür ein gutes Beispiel, daß man, wenn eine Anhäufung nicht protoplasmatischer Gebilde ausbleibt, nicht nur in dem Protoplasma, sondern auch in dem Zellkörper schwer eine Struktur feststellen kann.

Eine bestimmt unterscheidbare Zellmembran kommt nur den pathologisch veränderten Zellen zu. Ob nun die an der normalen Zelle erkennbare Membran eine differenzierte (wie die der Dotterzellen) oder nur durch oberflächliche dünne Verdichtung des Protoplasmas entstandene ist, das lasse ich dahingestellt. Beim Zerzupfen ist die Kernmembran viel widerstandsfähiger als diese vermeintliche Zellmembran.

Der Zellkörper färbt sich besonders in jüngeren Zellen durch chromatische Färbemittel, wie die verschiedenen Hämateine und Hämatoxyline sind, sehr auffallend. Die Zellen verlieren bei der Reifung langsam diese Färbbarkeit und die zur Reifeteilung bereiten Zellen erscheinen z. B. nach Eisenhämatoxylin zwischen den andern als ganz helle Zellen, ein Zustand, der uns sehr an Drüsenzellen erinnert, die den höchsten Grad ihrer Funktion erreicht haben. Die großen Eizellen werden von Eisenhämatoxylin nicht gleichmäßig gefärbt, sondern, wie es uns Fig. 31 zeigt, wechseln in ihnen verschwommene zusammengeflossene dunklere Flecke mit helleren ab. Manchmal entsteht aus den ersteren eine mittlere Zone in der Zelle. — Eine ganz andere Herkunft hat das fleckige Aussehen der reifen, sich teilenden Zellen, in dem Monasterstadium (Fig. 41). Schon Schleip (S. 370) hat derartige Flecken an teilenden Eizellen von *Planaria gonoc.* wahrgenommen, wo aber eine innere Zone sich hell, eine äußere sich dunkel färbt. »Es könnte«, sagt Schleip, »das vielleicht mit der Auflösung der Kernvacuole und dem Eindringen des Kernsaftes in das Plasma zusammenhängen, es kann aber ebensogut ein Kunstprodukt sein.« Es weist in meinen Präparaten nichts darauf hin, daß es sich um ein Kunst-

produkt handeln könnte, so daß ich mich ganz an Schleips erste Auffassung anschließe.

Die Mitochondrien der Eizellen sind nach dem Bukettstadium dünner und länger als die des Bukettstadiums. Man trifft in jungen strepsitänen Ovocyten viel mehr von ihnen als in den erwachsenen. Dort bilden sie, wie das Fig. 25 zeigt, eine dichte Haube um das Centriol. Später sind sie mehr in der ganzen Zelle verteilt. Sie lassen nur einen Hof um das Centrum frei. Sie sind jetzt manchmal so lang, daß ein Faden ein Viertel des Zelldurchmessers erreicht. Sie sind homogen, oder bestehen aus dicht angelagerten Körnchen. Sie verlaufen nie gerade, sondern wellig, geschlängelt, geschraubt, manchmal verschlungen, sogar zu mehreren zusammengeknotet. Bei Benda-Färbung verlieren sie sehr bald bei der Differenzierung ihre Farbe von Kristallviolett, so daß man sie höchstens 15, am besten 10 Sekunden lang in 3—5 μ dickem Schnitt differenzieren soll.

Die Mitochondrien von *Dendrocoelum*-Eizellen sind so dünne, feine Fäden, daß sie deswegen gar nicht geeignet sind, um bezüglich ihrer Genese und ihres weiteren Schicksals Erfahrungen machen zu können. Ihre auffallende Vermehrung in den jungen Ovocyten scheint nicht auf Kosten der Chromidien zu geschehen, denn die letzteren gehen dabei nicht verloren, sondern sie fangen in dieser Zeit selbst an sich zu vermehren. Ebenso wenig konnte ich darüber Beobachtungen machen, ob sie sich nur durch Teilung vermehren, oder auch spontan in der Zelle entstehen. Daß viele von ihnen während des Eiwachstums aufgebraucht werden, beweist die Abnahme ihrer Zahl zu Ende des Wachstums.

Als Mikrosomen habe ich voriges Jahr sich schwach färbende, nicht sehr deutliche Körperchen beschrieben, welche eckige, mit kurzen Fortsätzen versehene oder schollenartige, manchmal kugel- oder stäbchenförmige Gebilde sind. Ihre Färbung weicht nicht sehr von der des Protoplasmas ab, und eben deswegen findet man sie nur bei eingehenderer Beobachtung. Hämatein I. A. färbt sie nach warmen Fixierungen rötlichviolett, die Dreifachfärbung Apáthys bräunlich-violett. Ebenso blaß gefärbt sind sie mit den zwei Mitochondrienfärbungen (Benda: kristallviolett, Meves: Eisenhämatoxylin). Ob sie nun nichts anderes sind als stellenweise verdichtetes Protoplasma oder (am wahrscheinlichsten) letzte Umwandlungsphasen von Chromidialgranula oder von Mitochondrien, das konnte ich nicht entscheiden.

Die Randkörnchen (an den Figuren *rk* bezeichnet) habe ich früher zu den Chromidialgranula gerechnet, da sie sich ebenso färben, wie diese. Deswegen habe ich sie in meiner *Dendrocoelum*-Arbeit nicht erwähnt.

Später habe ich doch viele Unterschiede in den Farbennuancen gefunden, welche mich gezwungen haben, sie von den Chromidialgranula zu unterscheiden. Diese Körnchen hat bis jetzt noch kein Forscher beschrieben. Sie sind sehr lichtbrechend, und eben deswegen auch in den lebenden Zellen mit starken Systemen gut unterscheidbar; die Chromidialgranula haben aber nicht diese Stärke der Lichtbrechung. Mit Hämatein I. A. färben sie sich stärker und früher, als die Chromidialgranula (s. Fig. 26), aber nach Eisenhämatoxylin verlieren sie nach manchen Fixierungen früher ihre Farbe bei der Differenzierung als jene (s. Fig. 30 u. 31), und deshalb kamen sie früheren Forschern nicht zu Gesicht. Sie sind weiterhin in Boraxcarmin-Totopräparaten nach Fixierung mit ZENKERscher Lösung oder in Zupfpräparaten nach Sublimateisessig, wenn man das Boraxcarmin nicht differenziert hat, immer stark gefärbt neben den blassen Chromidien. Sie heben sich auch dann stark hervor, wenn man die Boraxcarminpräparate mit Methylgrün oder mit Bleu de Lyon nachfärbt. Auf die letzte Weise kann man die Randkörnchen am besten differenziert darstellen (Boraxcarmin 1 oder 2 Tage, Methylgrün oder Bleu de Lyon [in 50% alk.] sehr kurz, von $^1/_2$ Min. an). In FLEMMINGS Dreifachfärbung werden die Körnchen violett. Sie sind auch durch die BENDAsche Mitochondrienmethode äußerst stark rot-violett gefärbt. Nach SCHULTZES Osmiumhämatoxylinmethode scheinen sie schwärzlich.

Man könnte daran denken, daß diese Körnchen vielleicht Schalengranula sind, weil ihre Färbung in vieler Hinsicht mit denen der in Dotterzellen befindlichen Schalenkörnchen übereinstimmt. Doch andere färberische Verhältnisse sprechen direkt dagegen, denn die Schalengranula der Dotterzellen färben sich von Bleu de Lyon gelbgrün, von Methylgrün grasgrün, mit EHRLICH-BIONDIS Triacid bräunlich-gelb (die Randkörnchen da rot).

Diese Randkörnchen erscheinen erst am Anfange der zweiten Wachstumsperiode (Fig. 25 u. 26) (die Chromidialgranula viel früher). Sie treten in dem Innern der Zelle scharenweise in gewissen Nestern auf, und wandern dann an die Oberfläche heran. Solche Eizellen, welche pathologisch verändert die Reifeteilung antreten, geben diese Körnchen gänzlich ab, welche dann in größeren Klumpen um sie zusammenfließen, um später von den Nährzellen aufgenommen zu werden. Manchmal fand ich auch um die normalen Eizellen mit Monasterstadium einige von ihnen abgegeben. In das Ei (fälschlich Kokon) hineingelangte befruchtete Eizellen geben immer vollständig diese Körnchen ab. — Wir stehen also vor zwei Möglichkeiten bei der Beurteilung der Bestimmung der Randkörnchen. Weil manche im Ovarium zurückbleiben, ist es möglich, daß sie

nur Excretkörnchen sind, welche von der Eizelle ausgeworfen worden sein müssen; oder es sind gewisse Stoffe, durch deren Abgabe die Eizellen im Ei ihre Anwesenheit und Wirkung auf die Dotterzellen äußern.

Wir müssen noch das Glykogen und die fettartigen Gebilde besprechen.

Nachdem Glykogen in so ungeheurer Menge in dem gefütterten *Dendrocoelum* vorkommt, konnte man schon a priori ausschließen, daß in den Eizellen kein Glykogen vorkommt. Wenn seine Masse nicht den günstigen körperlichen Zuständen entsprechend groß ist, findet das seine Erklärung darin, daß die zur Ernährung der Furchungszellen berufenen Dotterzellen damit überladen sind. Der Glykogengehalt der Eizellen ist sehr schwankend. Einmal kommt soviel vor, daß für seinen Nachweis die Jodprobe (Ehrlichs Jodgummimethode mit dem Gummisyrup von Apáthy) vollständig genügend ist, ein andermal so wenig, daß man sich unbedingt zur Bestschen Methode wenden muß, um sich von seiner Anwesenheit zu überzeugen. Im allgemeinen ist es in den Eizellen während der ersten Wachstumsperiode wenig zu finden. Seine Menge nimmt allmählich bis zum Ende dieser Periode zu. Das Glykogen ist in den erwachsenen Eizellen in äußerst feinen Körnchen verteilt. In Schollen wird es auch von dem eindringenden Alcohol absol. nicht gedrängt, obschon er das Protoplasma immer an die gegenseitige Wand schiebt. Die Körnchen stehen in der Kernnähe dichter nebeneinander als gegen die Oberfläche. Ein Hof um das Centriol ist glykogenfrei, und sonst sind gegen den Hof auch die Körnchen weniger zahlreich. So daß man vielleicht von diesem Umstand auf einen Glykogenverbracuh in der Centriolennähe schließen könnte.

Ich glaube aussagen zu dürfen, daß echtes Fett oder Öl in den Eizellen nicht zur Ablagerung gelangt, obschon solches von den Nährzellen zugeführt wird. Doch kommen von Osmium schwärzbare fettartige Gebilde vor. Schon früher habe ich sie nach Flemmingscher Fixierung gesehen, damals aber nur in dem Bukettstadium in größerer Protoplasmamasse. Neuerdings habe ich aber in Osmium-Alkohol (1 : 50%)-Präparaten, wo die Fixierung in Anwesenheit von Spuren von Kaliumpermanganat oder Jodnatrium in der Nähe von 0° C in einem Eisschrank ausgeführt war (12 Stunden), verhältnismäßig viele derartige Gebilde an jeder Entwicklungsstufe der Eizellen gesehen. Diese Gebilde bieten uns sehr eigentümliche und variable Figuren. Wir sehen unter ihnen solche, welche wie geschwärzte unregelmäßige Vacuolen aussehen, ein anderes Mal findet man kompakte Schollen, oder eine Schollenreihe verbunden mit Fäden, wo Schollen mit Vacuolen gemischt sind, oder schleifenartige, gewundene Fäden, welche den Bukettchromosomen ähnlich sind. Es treten öfters

Moos- oder Flechtenfiguren, ähnlich wie die gewöhnlichen Rindenflechten auf. Gemeinsam ist für all diese Formen, daß unter ihnen wohlgeformte Kugeln, wie sie die gewöhnlichen Fettfiguren sind, nicht zu treffen waren.

Diese sind sehr vergängliche Gebilde.

Die Prophase der Reifeteilung.

Ich wollte meine Arbeit mit der Besprechung der Erscheinungen in der Wachstumsperiode abschließen, aber das Schicksal der Chromidialgranula und des Centriolums zwingen mich, mich auch mit der Reifeteilung zu beschäftigen, so weit es sich um die beiden erwähnten Dinge handelt.

Schleip (S. 370) berichtet uns, daß die chromatischen Granula in *Planaria gonocephala* zur Zeit der ersten Reifeteilung vollständig verschwinden; wohin? davon spricht er nicht. Bei *Dendrocoelum* kann von einem so vollständigen Verschwinden derselben kaum die Rede sein, denn manchmal sind auch noch in den Eizellen des schon ausgebildeten, beinahe ablegefertigen Eies sehr kleine Granula zu finden, viel mehr in den noch ovarialen reifen Eizellen, welche zur Befruchtung schon ganz bereit sind, wie es in Fig. 41 und 51 zu sehen ist. Eine sehr überwiegende Zahl der Granula ist aber aus ihnen wirklich verschwunden, zugleich erscheint aber statt des kleinen, stäbchenförmigen Centriols ein riesengroßes. Glücklicherweise hatte ich eine Schnittserie von einem Tier bekommen, von der ich den Eindruck bekommen habe, daß das große Centriol der ersten Reifeteilung auf Kosten der Chromidialgranula wächst.

Das Centriol steht in der wachsenden Eizelle ziemlich nahe der Kernmembran, es kann aber von ihr auch entfernt sein (Fig. 30). Wenn es sich aber zur Teilung vorbereiten will, dann rückt es gewöhnlich in die Nähe der Kernmembran und drückt oft die gewölbte kugelige Membran ganz platt (Fig. 45 u. 48). Wenn dabei in den Präparaten Einschnitte oder Einfaltung der Kernmembran erscheint (Fig. 46), halte ich es für Artefakte, die durch die Behandlung hervorgerufen sind.

Wie gesagt, ein echtes Centrosoma, das heißt ein gut begrenzter Hof um das Centriol, welches dem Centralkörper Mattiesens entsprechen muß, kommt in der wachsenden Eizelle nicht vor. Dieses bildet sich auch in der frühesten Prophase der ersten Reifeteilung noch nicht immer aus, wie das auch die Fig. 43, 44, 45 zeigen. Wenn sich die Teilungsspindel gebildet hatte, dann war aber das Centriol immer von einem kleineren oder größeren Hof umgeben. In solchen Fällen, wo das sich teilende Centriol nicht in einem besonderen Centrosoma liegt, ist es [1]) von einem

[1]) In Zenker-Präparaten.

nach Eisenhämatoxylin sich heller wie seine Umgebung färbenden unbestimmten Hof umgeben, in dem das, was uns in dem Zellkörper überall als Protoplasma entgegentritt, ausgeblieben ist. Es ist möglich, daß dieser Hof aus reiner Strahlung besteht, aber ebensowohl auch das, daß daneben auch noch eine Art von Protoplasma, aber nicht die typische, vorhanden ist. — Weil an meinen Figuren die Strahlen dunkler als das Plasma gezeichnet sind, könnte man folgern, daß dann der Hof um das Centriolum, den ich vielleicht aus reiner Strahlung bestehen lasse, dunkler wie seine Umgebung sein sollte. In diesem Hofe sieht man tatsächlich nicht so scharfe Fibrillen, wie ich gezeichnet habe. Man beobachtet in diesem Hofe nur eine dichte radiäre Streifung: Ich glaube, daß dieser Hof trotz Anwesenheit der Strahlenfibrillen deswegen heller ist, weil da wegen des Fehlens des mit Eisenhämatoxylin sehr schwärzbaren Protoplasmas von den Fibrillen die Farbe leicht ausziehbar ist. Ein solcher heller Hof tritt manchmal auch um das echte Centrosoma auf (Fig. 47).

Doch kommt es manchmal vor, daß die eben geteilten Centriolen schon von einem echten gemeinsamen centrosomaartigen Gebilde umgeben sind, wie das die Fig. 46—49 zeigen. Dieses Centrosom färbt sich sowohl mit Eisenhämatoxylin, wie mit Apáthys Hämatein I. A. stärker als seine Umgebung. Seine Grenze ist jetzt nicht so scharf, wie während der Metaphase. Auch sein Inneres ist gar nicht homogen, einmal wegen der eindringenden Granula und zweitens wegen der manchmal erscheinenden Bläschen (Fig. 50).

Das erste Merkmal, das daraufhin deutet, daß zwischen dem Centriol und den Chromidialgranula irgend eine Beziehung existiert, ist darin zu sehen, daß die in der wachsenden und erwachsenen Eizelle überall zerstreuten Granula (siehe Fig. 30, 31) anfangen, sich auf der Seite der Zelle zu sammeln, wo das Centriol liegt (Fig. 43). Später, nachdem die Centriolen sich geteilt haben, rücken sie näher an die Stelle heran, und stehen um den das Centriol umgebenden Hof in schmälerem oder breiterem Kreis (Fig. 44, 45) manchmal ziemlich regelmäßig herum. Um ihren Weg durch die Zelle leichter machen zu können, sammeln sich sehr oft die kleineren Granula in Längsreihen, oder zerbröckeln sich die größeren in Pünktchen von Längsreihen. Beinahe an sämtlichem Chromidialmaterial durchgeführt sehen wir diesen sonst in den andern Zellen nur hier und dort erscheinenden Zustand an Fig. 50.

Ihren Anschluß an die Centriolen vollziehen die Chromidialgranula auf dreierlei Weise. Sie können einmal ohne Regel, wie sie an den hellen Hof gelangt sind, nacheinander in diesen hineindringen und dort sich so dicht ansammeln, daß man die stäbchenförmigen ursprünglichen

Centriolen nicht mehr unterscheiden kann (Fig. 47, 48, 49). An Fig. 48 sieht man am besten die Art und Weise dieses Hineindringens; dabei sieht man auch reihenartige Anordnung der Körnchen, oder Verlängerung der größeren Granula. Diese Anhäufung kann soweit gehen, daß kaum einige Körnchen im Protoplasma bleiben (Fig. 49) und daß der Hof oder, wenn es sich schon um das Centrosoma handelt, dieses voll von Granula ist und sich noch keine Teilung an ihm bemerkbar macht. In den beiden andern Fällen bleibt der Hof oder das Centrosoma während der Teilung desselben ganz oder beinahe (bis auf zwei bis drei Körnchen) frei von Chromidialgranula, und erst nach der Teilung schließen sich diese an das Centriol an. Wobei die zweite Möglichkeit dieses Anschlusses sich darin äußert, daß die Granula sich zuerst zu zwei Klumpen links und rechts sammeln, wie das in Fig. 46 schon angefangen ist, und so auf das ihnen entsprechende Cytocentrum harren, oder drittens ohne vorherige Ansammlung zu den Centriolenhälften hineindringen.

Damit wir den Gedanken eines andern Zweckes des Körncheneindringens, als den der Vergrößerung des Centriols schon im voraus ausschließen, muß ich erwähnen, daß in pathologischen Fällen der Anschluß des Chromidialmaterials ausbleiben kann, also daß die Eizellen beim Eintritt in die Reifeteilung reichlich mit Chromidialgranula versehen sind, und dementsprechend die Centriolen ganz klein bleiben.

Die eingedrungene Chromidialmasse kondensiert sich dann innerhalb des Centrosoms weiter, bis endlich ein großes, meistens unregelmäßig geformtes Centriol in dem gut begrenzten Centrosoma erscheint. Das Centrosoma erscheint in Eisenhämatoxylinpräparaten nach Zenkers Fixierung bei entsprechender Differenzierung bestäubt von feinen schwärzlichen Körnchen. Vom Centriol gehen manchmal aus seinem Material bestehende Strahlen an die Peripherie des Centrosomas (Fig. 41, 51).

Was nun mit diesem eingedrungenen Chromidialmaterial geschieht, wie aus diesem das große Centriol entsteht, das läßt sich durch Beobachtungen nicht entscheiden. Zusammengenommen sind allerdings die zwei Centriolen der Reifeteilung viel kleiner als das zu ihrem Zustandekommen aufgebrauchte Chromidialmaterial. Ohne jede Schwierigkeit kann man also dabei daran denken, daß die ursprünglichen Centriolen dieses, nehmen wir an, als ein chemisch wenig fremdes Material assimilieren. Aber dieses ungleiche Größenverhältnis zwischen den Centriolen und dem gewesenen Chromidialmaterial steht auch jener Annahme nicht so sehr im Wege, wenn wir in den Chromidialgranula denselben Stoff erblicken wollen, woraus die ursprünglichen Centriolen bestehen; denn wir müssen dabei immerhin bedenken, daß wir diese Chromidien aus Kernchromatin ab-

geleitet haben, das eine sehr große Kondensationsfähigkeit besitzt. Dabei muß man auch noch daran denken, daß in pathologischen Fällen auf einmal viele Cytocentren auftreten, welche vielleicht ohne Teilung, also direkt aus Chromidialmaterial zustande kommen. Es wäre drittens möglich, daß diese Masse unverändert das auch nicht veränderte Centriol in sich verbirgt. — Ob nun die vergrößerten Centriolen durch Assimilation seitens des ursprünglichen Centriols oder durch Kondensation entstehen, das ist nicht wichtig, soviel ist aber sicher, daß wir es im *Dendrocoelum* bei der Reifeteilung mit einem Centriol zu tun haben, welches auf Kosten von aus dem Kern stammendem chromatischem Material wächst, also auf indirektem Wege Beziehungen zu dem Kerne hat.

Mit den dargelegten Resultaten hat vielleicht die 1907 ausgesprochene Vermutung Vejdovskýs von dem Centriol, die lautet: »Die Substanz, aus welcher diese Körperchen bestehen, ist gewiß eine specifische, höchstwahrscheinlich dem Chromatin am nächsten stehende« (S. 81), einen festeren Boden gewonnen.

Mit meinen Funden morphologisch vergleichbare Bilder hat bis jetzt meines Wissens nur Jörgensen [1.] an *Nephelis vulgaris* beschrieben (S. 329—339, Fig. 94—103, Taf. XXIII). Die von Jörgensen beschriebenen Körnchen — Protoplasmakörnchen, Dotter- oder Protoplasmaschollen genannt — zeichnen sich eben durch ihre starke Färbbarkeit mit Eisenhämatoxylin aus. Sie sind aber früher nicht zerstreut in dem ganzen Zellkörper, sondern entstehen spät ungefähr in der Mitte der angewachsenen Eizelle dort, wo dann die zwei Centriolen sofort erscheinen. Zu ihrer Genese nimmt er (S. 338) als nicht unwahrscheinliche Anlagen die aus dem Kern herausdiffundierten Chromidien an. Er denkt aber auch daran, daß sie auch aus dem Plasma »unter dem Einfluß der bis dahin noch nicht darstellbaren Centrosomen herausdifferenzieren« könnten. Es gibt also einen Unterschied zwischen den von mir und von Jörgensen beschriebenen Körnchen, denn ich habe für die meinen eine Herkunft aus dem Kern, weiterhin ihre fortdauernde Anwesenheit während des ganzen Ovocytenwachstums, eine Vermehrungsfähigkeit durch Teilung, ein substantielles Aufgehen mit Abbau im Protoplasma und eine Wanderungsfähigkeit nach dem Cytocentrum festgestellt. Bei *Nephelis* bilden sie einen schön geformten, asymmetrischen Kranz um die Centrosomen, was bei *Dendrocoelum* nie so schön zu sehen ist, und sie gehen dort später substantiell in der Sphärenstrahlung auf, also nicht im Centriol; weiterhin ist bei *Nephelis* durch die Asymmetrie des Kranzes die Richtung gewisser Kraftwirkungen bedingt, welche die Drehung der Sphäre und der Spindel

zur Folge haben. Wie gesagt, wir können nicht ausschließen, daß bei *Dendrocoelum* einige Körnchen von den um das Centriol angesammelten Chromidialgranula nicht in das Plasma oder in die Strahlung (wenn dieses letztere überhaupt möglich ist) aufgehen, aber ganz bestimmt haben wir nachgewiesen, daß sie zur Vergrößerung des Centriols beitragen.

Weil das Centriol in der Längsachse der heteropolaren Zelle gelegen ist, steht die Teilungsspindel senkrecht auf dieser Achse, und also tangential zur Zelloberfläche, denn die Spindelachse geht nicht durch die Mitte der Zelle; demgemäß fällt die Teilungsebene, wohin sich die Chromosomenpaare — welche noch immer nicht als Tetraden erscheinen — aufstellen, in eine Meridionalebene der Zelle. Diese Verhältnisse zeigt am schönsten Fig. 52. Wenn sie nicht immer schön regelmäßig zum Vorschein kommen, müssen wir an die räumlichen Hindernisse denken, welche die Zellen in ihrer Ausgestaltung so sehr beeinflussen.

Von der Auflösung der Kernmembran und der Ausbildung der Spindelfasern habe ich nichts erfahren, und wenn ich Bilder von der Metaphase veröffentliche, wie sie die Fig. 41, 51, 52 darstellen, so tue ich das deswegen, um einerseits zu zeigen, daß immer sieben Chromosomenpaare sich in der Teilungsebene aufstellen (im Gegensatz zu der von Mattiesen und Arnold angenommenen Zahl acht), und daß diese auch da noch achtförmige Ringketten aufweisen können, obschon sie gewöhnlich eine Ringform mit ein oder zwei Paaren offener Schenkel annehmen, aber doch keine echte Tetraden sind.

Die erste Reifeteilung, die erst in dem abgelegten oder ablegefertigen Ei abläuft, ist eine Reduktionsteilung, denn die Ringe oder Ringketten stehen mit ihrer Ebene senkrecht auf der Äquatorialplatte und mit ihren univalenten Komponenten den Teilungspolen zugerichtet (Fig. 41, 51).

Resultate und Allgemeines.

1. Die Hülle des Ovariums ist eine strukturlose Membran. Epithelial liegende, oberflächliche Zellen kann man nur in der Umgebung des Ovarialmundes beobachten.

2. Die Nährzellen sind nicht umgewandelte Ovocyten, wie das Jijima meint, sondern sie gehen aus Ovogonienteilungen, wenn nicht aus Urovogonien hervor. Nachweislich leiten sie Glykogen und Fett. Man findet in ihnen Mitochondrien.

3. Die in Ovarien befindlichen Dotterzellen sind nicht umgewandelte Ovarialzellen, sondern höchstwahrscheinlich schlüpfen sie aus der Tuba

bei der Eizellenabgabe und der Eibildung ins Ovarium hinein und zwar bei unregelmäßiger Bewegung des Schluckapparates.

4. Die Ovogonien machen eine mitotische Vermehrungsperiode durch, bevor sie sich in Ovocyten umwandeln. Bei den Teilungen treten 14 Chromosomen auf im Gegensatz zur Angabe von Mattiesen und Arnold, die 16 festzustellen glauben. Die Ovogonien haben mehrere Nucleolen im Gegensatz zu den Ovocyten, in denen gewöhnlich (nicht ohne Ausnahme) nur einer vorkommt. Diese Nucleolen gehen, wenigstens bei den letzten Ovogonienteilungen, nicht in die Chromosomen ein, sondern sie treten in den Zellkörper hinaus, wo sie aber nicht zugrunde gehen. Bei den allerletzten Ovogonienteilungen treten viel längere und dickere Chromosomen auf, als in den früheren. In der Telophase schließen sich die Nachbarchromosomen der Länge nach zusammen, so daß man höchstens 14 Chromosomenenden zählen kann.

5. Es ist fraglich, ob sich ein Ovocytenruhekern ausbildet oder nicht. Ein von Arnold angenommener Spiremkern der jungen Ovocyten läßt sich von Ovogonienspiremen nicht unterscheiden. Unverkennbar sind die Ovocyten durch ihre feinen gekörnelten Chromatinschleifen (Chromosomen), welche schon eine schwache Orientierung aufweisen. Von nun an verliert das Chromatin während der ganzen Ovogenese nicht seine gebundene Form, es bleibt immer in Form von Chromosomen, welche wohl viele Veränderungen und Bewegungen durchmachen, aber nie aufgelöst werden.

Mir erscheinen die Chromosomenschleifen oder Schleifenpaare nicht als Spiremsegmente, wie Arnold, sondern als getrennte, unabhängige wohlindividualisierte Einheiten.

6. Es gibt ein leptotänes Bukettstadium mit 14 univalenten, langen, gekörnelten, unregelmäßig gewundenen Chromosomenschleifen. Die sonst darauffolgende Synapsis, das heißt Zusammenballung der Chromosomen mit ununterscheidbaren Schleifen, bleibt bei *Dendrocoelum* aus; sie kommt nur in pathologischen Fällen vor. Aber es folgt ein diplotänes Bukett, welches durch paarweises Aneinanderlegen der univalenten Chromosomen zustande kommt. An Zupfpräparaten aus dem lebenden Tier konnte ich in vielen Fällen die sieben bivalenten Chromosomen ohne Mühe zählen. Ob ein pachytäner Zustand, d. h. ein Zustand der bivalenten Chromosomen mit ununterscheidbaren Komponenten zustande kommt, oder solche Bilder nur durch unzureichende Differenzierung der Präparate zustande kommen, lasse ich dahingestellt. Nach dem Diplotänstadium kommt mit Auflösung des Buketts durch stellenweise unterbrochene Spaltung das strepsitäne. Dieses wird manchmal schon am

Ende des Buketts eingeleitet. In diesem gehen die ring- oder verschiedentlich achtförmigen Paare auseinander und ordnen sich unter der Kernmembran. Dabei kommt wieder keine spiremartige Verbindung der Fäden zustande. Später verlassen sie diese oberflächliche Stellung. Aus diesen Ringen oder Ringketten bilden sich bis zur Metaphase der ersten Reifeteilung keine echten Tetraden, d. h. Gruppen aus vier morphologisch unterscheidbaren Teilen, in der Äquatorialebene der Reifeteilung sieht man immer nur zwei verbundene Chromosomen, also Diaden.

7. Mit den Schleifen oder Schleifenpaaren geschehen noch außerdem in zwei Richtungen Veränderungen während des Ovocytenwachstums: einerseits Streckung und Auflockerung bzw. Verkürzung und Verdichtung, anderseits Materialabgabe. Die Chromosomen strecken sich in ihrem leptotänen Zustand; das ist wahrscheinlich ein assimilatorisches Wachstum, weil es nicht mit einer Auflockerung, sondern augenscheinlich mit Vermehrung des Chromatins verbunden ist. Am Ende dieses Stadiums werden die Schleifen kürzer, ebenso während der Paarung. Nachher verlängern sie sich wieder und zwar unausgesetzt, auch noch in dem Strepsinemastadium. Besonders aufgelockert und gekörnelt erscheinen sie, wenn sie unter der Kernmembran gelagert sind. Verlassen sie diese oberflächliche Lage, so verkürzen sie sich fortwährend, ohne daß sie anfänglich an Färbbarkeit zugenommen haben, und gehen in die Chromosomenpaare der Reifeteilung über. Eine besondere und gewissermaßen der bisherigen entgegengesetzte Färbbarkeit tritt an den Chromosomenpaaren erst vor der Reifeteilung auf.

8. Färberisch und morphologisch könnte man innerhalb des Kernes dreierlei Art von Chromatin unterscheiden. 1. Eine Grundchromatinsubstanz der Schleifen, 2. das in den wohlgeformten Chromiolen verteilte und 3. das Nucleolarchromatin. Das Teilungschromatin, das der Menge nach dem ersten entsprechen soll, ist fähig, sich in die andern umzuwandeln oder diese herzustellen. Ob diese nun Abbauprodukte der vorigen und also nebensächliches, oder im Zellenleben mit ihm physiologisch ebenbürtiges, und nicht abgebautes, sondern in gewisser Richtung verändertes Chromatin gegenüber dem Grundchromatin darstellen, darüber konnte ich nichts erfahren. Während des strepsitänen Stadiums verschwindet die zweite Art, die Chromiolen, vollständig.

9. Aus ihrem Material lassen die Chromosomen den Nucleolus oder anfänglich mehrere Nucleolen entstehen und sich weiter vergrößern. Das dazu bestimmte Chromatin geben sie am Ende der Fäden ab. Die Schleifen sind während der ganzen Entwicklung der Ovocyten wahrscheinlich abwechselnd mit dem Nucleolus in substantieller Verbindung. Es sind in den

Nucleolen zweierlei wenn nicht dreierlei Substanzen vorhanden: und zwar das sich umwandelnde Chromosomenchromatin, das Nucleolarchromatin, und eine die Alveolen (wenn es solche gibt) ausfüllende Flüssigkeit.

10. Daß das Schleifenchromatin sich in Nuclearchromatin umwandeln kann, beweisen unter anderm besonders die pathologischen Fälle in dem strepsitänen Zustande, wo das Chromatin mit verschiedenen Verfahren sich auch innerhalb der Fäden genau so färbt, wie die Nucleolen.

11. Eine Kernmembran ist erst am Anfange des leptotänen Buketts nachzuweisen. Ich habe für den Kernmembrannachweis ein vorzügliches Mittel gefunden, indem ich das Schultzesche Osmiumhämatoxylinverfahren so modifiziert habe, daß ich zur dreitägigen Fixierung bei 30° C ein 2% Kaliumbichromicum und $^1/_2$% Osmium enthaltendes Gemisch angewandt habe, wonach ich ohne Auswaschen in der Hämatoxylinlösung vorschriftsmäßig einen Tag lang gefärbt habe. — Für die Kernmembran hat sich herausgestellt, daß die von anderen Forschern angenommene Vorstellung, daß sie eine semipermeable Membran sei, welche nach Art tierischer Membranen die osmotischen Verhältnisse zwischen Kern und Zellkörper gesetzmäßig regelt, experimentell nachzuweisen ist.

12. Es kommt in der *Dendrocoelum*-Eizelle zu einer regelrechten Chromidienbildung, in dem ich einerseits an einwandsfreien Präparaten das Austreten der Ovogoniennucleolen während der Teilung in den Zellkörper hinaus und anderseits Chromatinaustritt in dem Bukettstadium von den Chromosomenenden beobachtet habe. Die Chromidien als Granula zeichnen sich durch ihre Vermehrungsfähigkeit aus. Sie gehen einerseits im Protoplasma auf, und der Rest wandert anderseits selbständig, oder durch die Anziehungskraft des Centriols mobilisiert, in das Centrosoma hinein, und auf Kosten derselben vergrößert sich das Teilungscentriol.

13. Mattiesen hat als Centrosoma und Centriol und deren Teilung ein parasitisches Protozoon und dessen Teilung beschrieben, welches wirklich eine überraschende Ähnlichkeit mit dem Centrosoma hat. Solange das von Mattiesen vermutete Centrosoma an die Zelloberfläche rückt und sich dort teilt, verlassen die wirklichen Centriolen nie die Kernnähe und so spielt sich auch ihre Teilung eng an der Kernoberfläche ab. Es ist möglich, daß ein Centriol schon während des Buketts an dem Orientierungspol existiert, ich konnte es aber wegen der Chromidialgranula nicht nachweisen. Es erscheint aber sofort nach dem Bukett und entwickelt seine Strahlung immer an der Stelle, wohin die Schleifen gerichtet waren.

14. Sowohl in Ovogonien, wie in Ovocyten lassen sich Mitochondrien nachweisen. Es tritt an ihnen eine Formveränderung und auffallende Vermehrung am Anfange des Bukettstadiums auf.

15. Im Zellkörper sind noch außerdem gewisse zahlreiche oberflächliche Körnchen, Fett im Bukettstadium, später fettartige Gebilde und Glykogen in den erwachsenen Zellen nachzuweisen.

16. In hunderten von Fällen konnte ich zählen, daß in reifen Eizellen sieben strepsineme Chromosomenpaare (Dyaden) vorhanden sind.

Wenn ich jetzt dazu übergehe, meine Resultate im Lichte der herrschenden Theorien über Ovogenesis zu prüfen, so verzichte ich auf vollständige Literaturbesprechung, weil sie schon bei R. Hertwig ([7.] S. 49—54, [8.] S. 187—194) und bei Buchner ([1.] S. 385—403) ausgeführt ist. Ich berühre nur kurz die von R. Hertwig ausgearbeiteten Theorien der Ovogenesis ([6.], [7.], [10.]) um im Laufe dessen meine diesbezüglichen Erfahrungen und Gedanken zu besprechen.

R. Hertwig nimmt, nachdem er schon früher ([1.] S. 20—22; [2.] S. 5; [4.] S. 12) öfters ein Mißverhältnis zwischen Kern und Protoplasma wahrgenommen hatte, für jede Zellart unter normalen Zuständen immer dasselbe, bestimmte Massenverhältnis zwischen Kern und Protoplasma an, das ist seine normale Kernplasmarelation ([5.] S. 69—70; [6.] S. 15—16; [7.] S. 52, 112—114 und 117) oder Kernplasmanorm ([10.] S. 491), welche er hauptsächlich 1903 ausgearbeitet hat ([6.] und [7.]). Diese Kernplasmanorm wird zugunsten des Kernes neben andern Ursachen — wie Hunger ([2.] S. 5; [4.] S. 15; [5.] S. 71; [6.] S. 6), Hypertrophie ([5.] S. 71; [6.] S. 6) und Kälte ([6.] S. 10—12, 15) — auch durch autogene Teilung ([8.] S. 190—191 und 208) umreguliert ([7.] S. 55), wobei durch fortwährende Teilungen zuerst eine Kernhypertrophie und parallel damit ein allmähliches Anwachsen der Teilgröße bei Wiederherstellung der normalen Relation folgen soll ([6.] S. 7, 11—12). Diese Zunahme der Teilgröße kann nicht unendlich anhalten, das Protoplasma erleidet langsam eine physiologische Abnutzung ([5.] S. 62) und dann soll nach Hertwig der Kern noch mehr die Fähigkeit bekommen, auf Kosten des Protoplasmas zu wachsen; und so entsteht ein Mißverhältnis zwischen Kern und Protoplasma, wir bekommen eine Zelle mit verhältnismäßig wenig Protoplasma und vielleicht nicht nur mit verhältnismäßig, sondern auch mit absolut größerem Kern. — Diese an Protozoen erreichten Resultate überträgt er auch auf die Metazoen, wie er auch schon in früheren Arbeiten darauf hingewiesen hat, daß die an den Protozoen beobachteten Mißverhältnisse zwischen Kern und Protoplasma sich auch an den Eizellen vorfinden ([4.] S. 12; [6.]

S. 9); schon 1905 zieht er eine Parallele bezüglich der autogenen Teilung und deren Folgen zwischen den Protozoen und den vielzelligen Organismen ([8.] S. 208), was er in 1906 weiter vervollkommnet hat [10.].

Wir müssen nun, entsprechend dieser Theorie, kleine Ovogonienzellen, größer gewordene Ovogonien, und als Endresultat die ältesten Ovogonien oder jungen Ovocyten mit verhältnismäßig großem Kern und mit wenigem Protoplasma finden. Und in der Tat entsprechen diesen Forderungen die Befunde, insoweit als ich die Ovogonienreihenfolge feststellen konnte. Fig. 54 zeigt eine Urovogonienzelle von einem jungen Ovarium, wo sich erst eine leptotäne Ovocyte entwickelt hat, Fig. 55 eine junge Ovogonienzelle eben davon (mit derselben Vergrößerung). Fig. 56 und die Fig. 1—4, die alle ihre Teilgröße schon erreicht haben, und in zerbröckeltem, oder in noch weiter entwickeltem Spiremstadium befindliche Ovogonien darstellen, zeigen, zu welchem Mißverhältnis zwischen Kern und Protoplasma die Ovogonienteilungen führen.

In den Hertwigschen Gedankenreihen ist an und für sich sehr gut erklärt, daß die Zunahme des Kernes durch Zunahme seiner Chromatinmasse bedingt ist. Nach R. Hertwig soll sich nämlich das aus Chromatin und Achromatin bestehende Protoplasma bei der Funktion in eine funktionierende Plasmaart und in ein in den Kern hineingehendes Chromatin spalten, und so bedingt die fortwährende Funktion die fortwährende Zunahme des Kernes auf Kosten des Protoplasmas ([4.] S. 17). Er stützt sich dabei einerseits auf Erfahrungen an Protozoen, wo während des Teilungswachstums und der Teilung das Protoplasma sich sehr chromatisch färbt ([6.] S. 17). Das gleiche hat er schon 1888 an befruchteten Seeigeleiern (siehe [4.] S. 11) erfahren. Anderseits führt er ins Feld die Hungerversuche an Protozoen ([2.] S. 5; [4.] S. 14—15), wo das Kernwachstum wegen Nahrungsmangel nur auf Kosten des Protoplasmas zu denken ist. — Da ich trotz der größten Aufmerksamkeit darüber keine Erfahrungen machen konnte, daß bei *Dendrocoelum* Chromatin im Protoplasma entsteht, und keine Erfahrungen, ob Chromatin durch die Kernmembran in den Kern hineintritt, so muß ich auf anderm Wege die Zunahme der Kerngröße zu erklären suchen. Es wäre sehr leicht möglich, und bei Hungerversuchen ja zu erwarten, daß der Zellsaft im Laufe des Zellenlebens oder der Teilungen an Konzentration verliert, daß er bei ausbleibendem Ersatz (in Hungerversuchen) oder bei schnellerem Aufbrauchen (was vielleicht das schnelle Tempo der Teilungen bedingt) der gelösten Nahrungsstoffe flüssiger wird. Dann gerät der Kern in Hypotonie, was durch Flüssigkeitsdiffusion in den Kern hinein ausgeglichen werden, und zur Vergrößerung des Kernes führen soll. An eine Flüssigkeitsaufnahme bei den Ovocyten

denkt auch schon R. Hertwig [11.] und Popoff ([3.] S. 361). Und schon R. Hertwig hat in seiner *Actinosphaerium*-Arbeit daran gedacht, daß die Zunahme der Kerngröße vor der Encystierung teilweise auf Imbibition beruhen soll ([1.] S. 20—22). Er beschreibt aber auch schon dort eine Substanzaufnahme. Es ist aber auch das sehr leicht möglich, daß das Kernchromatin, nachdem der Kern durch Flüssigkeitsaufnahme an Arbeitsraum gewonnen hat, in diesem günstigeren Zustand vermehrungsfähiger wird.

Das ist sonst wieder eine fragliche Sache, mindestens in bezug auf Metazoen, ob die Zunahme der Teilungsgröße des Kernes zugleich eine Zunahme des Teilungsquantums bezeichnet. Zugunsten des letzteren Punktes könnte ja gerade im *Dendrocoelum* der Umstand sprechen, daß die Chromosomengröße in der letzten Ovogonienteilung beträchtlich zugenommen hat. Die Menge hängt aber nicht nur von der Größe, sondern auch von der Kondensation ab. Und von einer Kondensationsschwäche des Chromatins bei den letzten Ovogonienteilungen könnten wir vielleicht deswegen sprechen, weil etwas von dem geschwächten, deprimierten Zustand, welcher in den jungen Ovocyten so prägnant hervortritt, sich schon in den letzten Ovogonienteilungen zeigen kann oder soll. Und die Chromosomenschleifen zeigen ja in den jungen Ovocyten, wo es sich in den Bukettstadien um einen Teilungsversuch oder um eine eingeleitete Teilung handelt, als Merkmal ihres deprimierten Zustandes im Gegensatz zu andern Teilungschromosomen eben eine große Kondensationsunfähigkeit. Man könnte weiterhin auf Grund der Chromatinabgabe wieder daran denken, daß doch mehr Chromatin, als das Teilungsquantum darstellt, hergestellt werden kann, aber eine Chromatinabgabe kann auch ebensogut umgekehrt beweisen, daß der aus irgend einem Grunde hergestellte Überfluß als nicht zur Teilung gehörig abgegeben werden soll.

In den Gedankenfolgen R. Hertwigs heißt es nun weiter, daß, sobald in den Zellen das erwähnte Mißverhältnis zwischen Kern und Protoplasma entstanden ist, diese in eine Depression (Calkins und Hertwig [6.] S. 6) geraten, was nach R. Hertwig besonders auf die Teilungsenergie hemmend wirken soll. Die Geschlechtszellen wollen noch eine Teilung versuchen, ihr Chromatin erreicht nochmals das Teilungsquantum, aber die Teilung gelingt nicht und infolge dessen wandeln sich eigentlich die bisherigen Ovogonien zu Ovocyten um.

Schon Woltereck (1898), Häcker (1892) und Meves (1895) haben, wie das auch z. B. bei Buchner ([1.] S. 387) bemerkt ist, das Diplotänstadium für unterdrückte Teilung erklärt. Daß die Ursache des Ausbleibens der Teilung die Depression ist, darauf hat aber R. Hertwig ([10.] S. 497)

hingewiesen. Daß wir in den Erscheinungen, um die es sich in den jungen Ovocytenkernen handelt, Teilungserscheinungen erblicken müssen, dafür haben wir ein einwandfreies, beweisendes Beispiel in *Dendrocoelum*, denn da gehen die Fäden, welche sich im ganzen leptotänen Bukett orientiert aufstellen, unverloren in die Reifeteilungen über. Wie uns schon bekannt ist, waren im *Dendrocoelum* die Chromosomenschleifen während der zweiten Wachstumsperiode nicht zerstäubt. Die Teilung wird auch in manchen pathologischen Fällen in dem jungen strepsitänen Zustande mit Gebilden durchgeführt, die den Reifeteilungschromosomenpaaren ähnlich sind. Für einen Teilungszustand spricht auch das Auftreten des Teilungsorganells und später seiner Strahlung. Während die Anhänger der »end to end«-Konjugation in dem Diplotänstadium einen später rückgängig gemachten Teilungsversuch der Chromosomen erblicken, können auch wir im Lichte der Längskonjugation zugunsten der Hertwigschen Theorien die Konjugation der Chromosomen als einen Versuch auffassen, wodurch die teilungsschwachen Chromosomenindividuen sich durch Substanzmischung erfrischen und kräftigen wollen, worauf aber keine Teilung, sondern, wie das aus der Konjugation der Protozoen bekannt ist, zuerst eine lange Ruheperiode folgt.

Popoff ([3.] S. 360) nimmt an, daß bei *Paludina* das funktionelle Kernwachstum bis zur Mitte der Synapsis dauert, und von da ab ist eine intensivere Größenzunahme des Kernes zu bemerken, was nach ihm ein Zeichen ist, daß der Kern in das Teilungswachstum eingetreten ist. Ich konnte leider derartiges nicht bemerken. Der Synapsis sollte bei mir der Übergang zwischen Leptotän und Diplotän entsprechen. Die Fig. 57 *A* und *B* zeigen uns die Größe der Zellen im Leptotänstadium, Fig. 58 ein Übergangsstadium, wohin das paarweise Aneinanderlegen der Chromosomen fällt, Fig. 59 *A* ein junges, Fig. 60 ein vorgerücktes Diplotän: wie an diesen Figuren zu sehen ist, geht das Kernwachstum im *Dendrocoelum* allmählich vor sich.

Es fragt sich nun, aus welchem Grunde wir eigentlich, wenn überhaupt, von einer Depression, von einer gelähmten, geschwächten Lebensenergie der jungen Ovocyten sprechen. Der augenfälligste Grund dafür ist die langsame Vorbereitung zur Teilung — die sich sonst in den Ovogonien so rasch abspielt, daß man kaum Teilungsfiguren findet — und die Behinderung der Durchführung und Hinausschiebung der Beendigung auf Monate lang. Auch das Chromatin ist nicht so kondensationsfähig, und bildet nicht wie früher kompakte Chromosomen. Weiterhin ist das auftretende Teilungsorgan viel kleiner, als das der Ovogonien, was sich aus dem Vergleich der Fig. 25, 30, 31 mit Fig. 5 und 7 sofort ergibt; es bedarf zu den Reifeteilungen eines Riesenwachstums (Fig. 50, 51). Alle diese

Erscheinungen weisen darauf hin, daß in der Depression besonders die an der Teilung aktiv teilnehmenden Komponenten der Zelle gelitten haben.

Dem entgegen könnte man anführen, daß auch in dem *Dendrocoelum*-Ovar auffallend viele Eizellen der Degeneration anheimfallen, — was sonst eigentlich der beste Beweis für einen Depressionszustand der Ovocyten ist (wie auch bei Popoff für *Paludina* [2.] S. 70—71) — daß also in der Depression auch das Protoplasma ebensoviel leidet. Ich darf aber dabei an den großen Einfluß denken, den der Kern auf die ganze Zelle ausübt, nämlich daß kernlose Protozoen verdauungs-, assimilations- und regenerationsunfähig sind, daß also unsere Eizellen deswegen einer Degeneration anheimfallen, weil ihr Kern zu schwach geworden ist, die eben angeführten regulatorischen Einflüsse kräftig auszuüben. Es sprechen weiterhin auch die Resultate R. Hertwigs ([1.], [2.], [6.], [7.], [9.]), welche uns lehren, daß die Zellen (verstanden hauptsächlich die gut bekannten Protozoen), wenn nicht durch Teilung, doch immer durch Kernreorganisation (Resorption [6.] S. 6; [7.] S. 51, Chromatinabgabe [6.] S. 7 und 9) — auch bei Konjugation — sich von dieser Depression erholen, wieder zugunsten einer physiologischen Kernschwäche. Damit wollte ich aber nicht sagen, daß das Protoplasma gar nicht von der Depression betroffen wäre; aber daß es immerhin viel ertragen kann, beweisen solche Fälle, wo während des Bukettstadiums, also in dem vermeintlichen tiefsten Depressionszustand, die einmal schon beschriebenen parasitischen Lebewesen in die Zellen eindringen und diese doch der Degeneration nicht anheimfallen. Der hauptsächlichste Grund aber, der mich zwingt, den an den Teilungen aktiv teilnehmenden Zellkomponenten (Kern und Teilungsorgan) eine größere Depression als dem Protoplasma zuzuschreiben, ist der Umstand, daß die Mitochondrien — diese Kennzeichen der jugendlichen Kraft der Zellen — eben in dieser größten Depression ein auffallendes Größenwachstum und große Vermehrungsfähigkeit zeigen, ein Punkt, der sehr gegen eine angeblich größere Protoplasmaschwäche spricht. — Damit wollte ich eine gewisse Basis meiner persönlichen Abneigung zu Popoffs Auffassung schaffen, nach der die Geschlechtszellen nicht die lebensfähigsten und normalsten Zellen der Organismen sein sollen ([2.] S. 71). Popoff führt z. B. auch die Dotterbildung auf Protoplasmaschwäche, welche bis zur Assimilationsunfähigkeit sinkt, zurück ([3.] S. 373). Auch Jörgensen ([2.] S. 616—621) hat schon dagegen Stellung genommen, daß die Dotterbildung ein Ausdruck herabgesetzter, gelähmter Tätigkeit der Eizelle wäre. Er spricht sich im allgemeinen gegen einen angeblichen Depressionszustand der jungen Ovocyten aus. Als einen Gegenbeweis will er anführen, daß bei *Proteus* die Eizellendegenerationen nicht mit den erwähnten De-

pressionszeiten zusammenfallen. Ein solcher Beweis wäre nur in seiner allgemeinen Gültigkeit begründet, für das *Dendrocoelum* ist er aber nicht gültig, denn hier degenerieren auch Bukettovocyten sehr oft.

Von der besprochenen Depression versuchen die Protozoen, wie gesagt, durch Kernresorption, Chromidialabgabe, Teilung oder Konjugation sich zu erheben. Auch im *Dendrocoelum* fällt die von mir beobachtete Chromatinabgabe ins Bukettstadium, also in die angenommene Depression.

R. Hertwig bezeichnet die vorausgehende Ursache der Teilungen als Kernplasmaspannung; das ist das Endresultat des funktionellen Wachstums, wo ein verhältnismäßig großes Protoplasma noch mit einem kleinen Kern versehen ist. Durch diese Kernplasmaspannung soll der Kern einen Anstoß zu schnellerem Wachstum bekommen ([6.] S. 16). Unter dieser Kernplasmaspannung versteht R. Hertwig nichts anderes als »ein Mißverhältnis zwischen Kernmasse und Protoplasmamasse zugunsten der letzteren, ein Mißverhältnis, welches bei der Teilung ausgeglichen wird, indem die Substanzmasse des Mutterkerns auf die Masse der beiden Tochterkerne ... heranwächst« ([6.] S. 16). — Bezüglich des *Dendrocoelum* ist es auch Arnold aufgefallen, daß der Kern bis zum Diplotänstadium unverhältnismäßig zugenommen hat. Er sagt, daß deswegen der Nucleus hinsichtlich des Cytoplasmas sich in Spannung, und zwar, wenn ich es richtig verstanden habe, in einer physikalischen Spannung befinden soll. Er nimmt nämlich einen inneren Druck an, in welchem er einen genügenden Grund dafür sieht, daß durch ihn die schweren Chromatinpartikelchen in dem leichten Saft eine bedeutende Kondensation erleiden. Auf diese Weise versucht Arnold die Synapsis als einen natürlichen Zustand darzustellen. Meiner Auffassung gemäß kann ein Druck, der in einer Flüssigkeit ausgeübt wird, nur dann zur Kondensation eines in dieser Flüssigkeit zerteilten Stoffes führen, wenn zwischen der Flüssigkeit und den Stoffpartikelchen Druckunterschiede hervorzurufen wären, und zwar in der Weise, daß in der Flüssigkeit ein größerer Druck herrscht als in den Stoffpartikelchen. Ein solcher ist aber für Kernflüssigkeit und Chromatinpartikelchen undenkbar, denn die letzteren sind weder wasserfrei, noch durch eine Membran — als Bedingung zum Hervorrufen osmotischer Druckunterschiede — von der vorigen getrennt.

Auf einem andern, aber ebenso gewaltsamen Wege versuchte Popoff schon früher eine Erklärung der synaptischen und Bukettfiguren, weiterhin der Chromatinabgabe und der Polstrahlung im Protoplasma ([3.] S. 360—366) zu geben, gegen welche auch schon Buchner ([1.] S. 395—396) mit Recht Stellung genommen hat. Popoff stellt nämlich durch Messungen eine auffallende Zunahme der Ovocytenkerne von der Synapsis

bis zum Diplotän fest, und er erklärt sie als das Teilungswachstum Hertwigs. Popoff nimmt an, daß dieses auffallende Größenwachstum zugleich eine schnell ablaufende Erscheinung sei, was nur mit Flüssigkeitsaufnahme zu erklären wäre. Diese Flüssigkeitsaufnahme ist so rasch, die dabei auftretenden Diffusionsströmungen sind nach ihm so gewaltig, daß sie das Chromatin in Diffusionswirbel bringen und in dem Wirbelcentrum zusammenballen, und so die Synapsis auf mechanischem Wege zustandebringen.

Wenn wir nun die von Popoff erwähnten Erscheinungen näher untersuchen wollen, fragt es sich vor allem: ist dies auffallende Wachstum zugleich ein schnelles Wachstum? Denn wenn dabei ein Diffusionswirbel auftreten soll, dann muß dieses Wachstum nicht nur eine schnelle, sondern sogar eine momentane Erscheinung sein. Popoff selbst gibt keinen Grund an, warum das Wachstum schnell ablaufen soll, ich selbst finde keinen solchen. Denn bei Anwesenheit einer die osmotischen Verhältnisse aufrecht erhaltenden Kernmembran könnte eine plötzliche Flüssigkeitsaufnahme seitens des Kernes nur bei einer plötzlichen entgegengesetzten Umwandlung der Konzentration der Zellsäfte im Zelleib und im Kern auftreten, wobei der Kern unbedingt in Hypotonie geraten müßte. Nach unseren Beobachtungen kann der Kernsaft in diesem Stadium von selbst nicht plötzlich konzentrierter werden, denn sein Arbeitselement, das Chromatin ist schon vor der Synapsis aus seinem aktivierten, zerstäubten Zustand längst zu dem mehr gebundenen, arbeitsunfähigeren Fadenzustand zusammengetreten. Noch schwerer können wir uns das Entgegengesetzte vorstellen: warum der Zelleib plötzlich diluter werden soll, als er früher war, damit der Kern dadurch in Hypotonie gerate.

Popoff nimmt weiterhin an ([3.] S. 364), daß während dieser Flüssigkeitsaufnahme die Kernmembran sich so weit dehnen muß, daß sie am Ende an der nachgiebigsten Stelle aufreißen muß. Zu den Einwänden Buchners gegen diese Annahme möchte ich noch hinzufügen, daß, wenn die Kernmembran, um sich an diese Raumveränderungen zu akkomodieren, als einzige Fähigkeit die Dehnbarkeit hätte, dann müßte jedes Kernwachstum zu einem Dünnerwerden der Kernmembran führen. Wir wissen aber, daß die Kernmembran auch in die Dicke wachsen kann und ich hatte eben an *Dendrocoelum* erfahren, daß während des Bukettstadiums parallel mit der Zunahme der Kerngröße die Kernmembrandicke zugenommen hat.

R. Hertwig hat in seiner Kernplasmarelationstheorie eine Erklärung für das Größenwachstum des Ovocytenkörpers und der Kerne versucht. Gestützt auf Resultate Boveris, nämlich darauf, daß die Verkleinerung der Kernmasse zur Verkleinerung der Kerngröße, und Ver-

größerung der Kernmasse zu einer Vergrößerung der Zelle (GERASIMOFF und BOVERI) führen soll, weist er darauf hin, daß die, durch die Depression in ihrer Teilung aufgehaltene Ovocyte mit jetzt schon doppelter Chromatinmasse im Kern und im Körper auf das doppelte, oder noch weiter wachsen muß.

Ich möchte nicht versäumen, bei dieser Tatsache auf einen sehr günstigen Umstand hinzuweisen, der uns einiges im Kernwachstum erklären kann. Wir sehen da, wie auch in den Versuchen von BOVERI und GERASIMOFF, daß das, was zuerst auftritt, die doppelte, bzw. halbe Chromatinmasse ist, und erst nachher folgt das Kernwachstum; präziser gesagt, der Kern wird nicht durch Zunahme seiner Chromatinmasse größer, sondern die Vermehrung der Chromatinmasse zieht später die Größenzunahme des Kernes nach sich. Damit ist zugleich der einwandfreie Beweis erbracht, daß die Kerngrößenzunahme als Folge der Chromatinvermehrung doch eigentlich in vielen Fällen auf Flüssigkeitsaufnahme beruht, denn — in der *Dendrocoelum*-Ovocyte wenigstens — ist während der zweiten Wachstumsperiode keine Vermehrung des Chromatins zu erkennen. Und wie schon öfters gesagt wurde, muß eine Flüssigkeitsaufnahme in den Kern hinein immer dann auftreten, wenn der Kern in Hypotonie geraten ist. Daß eine langsam zunehmende, aber immer ausgeglichene Konzentration der Kernflüssigkeit mit dem doppelten Arbeitsmaterial leicht zu erreichen ist, ist leicht einzusehen. Und anderseits, wenn ich Fixierungserscheinungen dazu benutzen darf, haben wir Grund, auch das anzunehmen, daß während des Ovocytenwachstums der Zellkörpersaft an Konzentration fortwährend verliert. Ich habe nämlich mit den meisten Fixierungen, besonders mit Osmiumgemischen erfahren, daß die Ovocytenkerne in der ersten Wachstumsperiode prall geblieben sind, während sie in der zweiten geschrumpft, gefaltet, oder eingeschnitten erscheinen, was an lebendigen Zellen nicht zu sehen war. Ich denke die Erklärung dafür darin zu finden, daß die jungen Ovocyten und Ovogonien einen so konzentrierten Saft haben, der durch die eindringende Fixierungsflüssigkeit gar nicht verstärkt wird; in den Ovocyten der zweiten Wachstumsperiode aber wird der Zellkörpersaft konzentrierter durch die Fixationslösung und gerät in Hypotonie gegenüber dem Kern. Der Kern muß nun Wasser abgeben und dadurch eine Schrumpfung erleiden.

Mag es sein, daß wir durch das Obige die richtige Erklärung gefunden haben oder nicht, es wird sich an der Tatsache, daß der Ovocytenkern in der zweiten Wachstumsperiode hauptsächlich durch Flüssigkeitsaufnahme sich vergrößert, nichts ändern. Was für einen Vorteil die Arbeitsraumvergrößerung (Kernzunahme) mit aufrecht erhaltener Arbeitsmasse

(Chromatin) für die Zelle mit sich bringen kann, kann sich jeder vorstellen, der die Vorteile der Vergrößerung eines chemischen Laboratoriums mit beibehaltenen Arbeitskräften erfahren hat.

Die Hertwigsche Erklärung des Eiwachstums findet also ihre Begründung in den Gerasimoff-Boverischen Versuchen, wo die Verdoppelung der Chromatinmasse zur Vergrößerung der Zelle führt, und anderseits in der Tatsache, daß der Kern in dem Diplotänstadium die zur Teilung nötige doppelte Chromatinmasse erreicht hat. Es ist nun in dieser Hinsicht meiner Ansicht nach gleichgültig, ob die diplotänen Fäden als Zeichen eines wirklichen Teilungsversuches, welcher rückgängig gemacht wird, anzusehen sind, also ob die unmittelbar entstandenen und bei end to end-Konjugation in der reduzierten Zahl erschienenen, dicken Fäden sich spalten, oder ob sie im Gegenteil durch Längskonjugation der dünnen Fäden zustande kommen. Denn das Beispiel von *Dendrocoelum*, wo die Längskonjugation leicht zu beobachten ist, beweist, daß auch im Falle des parallelen Aneinanderlegens schon zu dieser Zeit das Teilungsquantum, das heißt das Doppelte des Ruhechromatins, erreicht ist, da die konjugierenden Fäden unverändert, unaufgelöst und ohne jeweilige Zusammenballung Reifeteilungen eingehen.

Vejdovský bezeichnet in seiner neuen Schrift (1912) die R. Hertwigschen Theorien als eine »interessante Episode« in der Lehre über Entwicklung der Geschlechtszellen (S. 159) und glaubt diese mit dem Beweis der Längskopulation widerlegt zu haben. Er sucht den Grund für das Eiwachstum in dem sog. Innenkern. Er meint, daß die Zusammenballung der Chromosomen bzw. seiner Chromonemen während der zweiten Wachstumsperiode in einen oder mehreren Klumpen eine Entwicklungsbehinderung der Chromatingebilde bedeute und dabei die Eizelle Gelegenheit gewinnt, weiter zu wachsen ([2.] S. 151 und 156). Dieses willkürliche Zusammenbringen der Erscheinungen hat an sich wenig Glaubwürdiges und Befriedigendes; und außerdem ist es für das *Dendrocoelum* auch vollständig haltlos, denn es findet dabei nie eine Zusammenballung der Chromosomen bzw. des Chromatins statt, und die Eizellen entwickeln sich auch ohne den von Vejdovský postulierten Zeitgewinn ganz normal fertig. Und so bleibt doch der R. Hertwigsche Erklärungsversuch der einzig einleuchtende.

Die Arbeit fertigte ich in einem für mich überaus lehrreichen Studienjahre im Münchener zoologischen Institute an. Ich ergreife mit Freude die Gelegenheit, auch an dieser Stelle Herrn Prof. Richard Hertwig

meinen aufrichtigsten Dank für die Überlassung eines Arbeitsplatzes und der Institutsausrüstung auszusprechen, ebenso wie den Herren Prof. RICHARD GOLDSCHMIDT und OTTO MAAS für das rege Interesse und den mannigfaltigen Rat, die sie meiner Arbeit angedeihen ließen.

Literaturverzeichnis.

APÁTHY, ST. [1.] Das leitende Element des Nervensystems und seine Lagebeziehungen zu den Zellen, bei Wirbeltieren und Wirbellosen. Mitteil. a. d. zool. Station zu Neapel. Bd. XII. S. 495—748. Taf. XXIII—XXXII.

—— [2.] Meine angebliche Darstellung des Askaris-Nervensystems. Zool. Anz. Bd. XXXII. 1907. S. 381—385.

—— [3.] A rögzithetöség és a festhetöség különbözösége, mint az élettani állapot változásainak jele az idegrendszerben. (Fixierbarkeit und Färbbarkeit als Zeichen der Veränderung des physiologischen Zustandes.) Akadémiai Értesitö. (Berichte der ung. Akad. d. Wiss.) Budapest 1908. XIX. kötet, 8—9 Füz. p. 401—411.

—— [4.] Der Vergleich der Neurofibrillen mit Protoplasmaströmen oder Protoplasmafäden. Folia Neuro-Biologica. Bd. 1908. S. 289—299.

ARNOLD, GEORGE. The Prophase in the Ovogenesis and the Spermatogenesis of Planaria lactea O. F. M. (Dendrocoelum lacteum Oerst.). Arch. f. Zellforsch. Bd. III. 1909. S. 431—448. 1 Textfig. Taf. XXII—XXIII.

BÖHMIG, L. Tricladenstudien. I. Tricladida maricola. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXXI. 1906. S. 344—504. 9 Textfig. Taf. XII—XIX.

BUCHNER, P. [1.] Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese der Orthopteren, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Reduktion. Arch. f. Zellforsch. Bd. III. 1909. S. 335—430. 5 Textfig. Taf. XVI—XXI.

—— [2.] Von den Beziehungen zwischen Centriol und Bukettstadium. Arch. f. Zellforsch. Bd. V. 1910. S. 215—228. 23 Textfig.

CHICHKOFF. G. Recherches sur les Dendrocoeles d'eau douce (Triclades). Arch. d. Biol. T. XII. 1892. p. 435—568. Pl. XV—XX.

DUESBERG, J. Nouvelles recherches sur l'appareil mitochondrial des cellules séminales. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI. 1911. S. 40—139. 10 Fig. Taf. III bis IV.

FISCHER, ALFRED. Eine neue Glykogenfärbung. Anat. Anz. Bd. XXVI. 1905. S. 399—400.

GELEI, J. [1.] Beiträge zur mikroskopischen Anatomie von *Dendrocoelum lacteum*. Muzeumi Füzetek. Naturwissenschaftliche Museumshefte. Bd. I. 1906. S. 155—156.

—— [2.] Tanulmányok a Dendrocoelum lacteum Oerstd. szövettanáról. (Studien über die Histologie von Dendrocoelum lacteum Oerstd.) A Magyar Tudományos Akadémia kiadványa. (Ausgabe d. ung. Akad. d. Wiss.) Budapest (1909) bis 1912. S. 289. 19 Textfig. 16 Taf.

GOLDSCHMIDT, R. [1.] Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebezellen. Zool. Jahrbücher. Anat. Abt. Bd. XXI. 1904.

Goldschmidt, R. [2.] Das Skelet der Muskelzelle von Ascaris nebst Bemerkungen über den Chromidialapparat der Metazoenzelle. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV. 1910. S. 81—119. 3 Textfig. Taf. VI—IX.

—— [3.] Das Nervensystem von Ascaris lumbricoides und megalocephala. III. Teil. Festschrift R. Hertwig. 1910. Bd. II. S. 253—354. 29 Textfiguren. Taf. XVII—XXIII.

Graff, L. v. [1.] Monographie der Turbellarien. I. Rhabdocoelida. Leipzig 1882. XII und 442 Seiten. 12 Textfig. 20 Taf.

—— [2.] Monographie der Turbellarien. II. Tricladida terricola (Landplanarien). Leipzig 1899. XIII und 574 Seiten. 90 Textfig. und Atlas mit 58 Taf.

—— [3.] Turbellaria. Bronns Klassen und Ordnungen des Tierreiches. Bd. IV. Abt. I. c. I. Abt. Acoela und Rhabdocoelida. Leipzig. 1904—1908. XXII und Seite 1733—2599. 106 Textfig. Taf. I—XXX.

Hertwig, R. [1.] Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von Actinosphaerium Eichhorni. Abhdl. d. k. bayer. Akad. d. Wiss. II. Kl. Bd. XIX. Abt. III. 1898. S. 635—734. 8 Taf.

—— [2.] Was veranlaßt die Befruchtung der Protozoen. Sitzungsber. der Ges. f. Morph. u. Phys. in München 1899. Hft. I. 8 S.

—— [3.] Über Encystierung und Kernvermehrung bei Arcella vulgaris. Festschrift z. 70. Geb. v. Kupfer. 1899. S. 367—382. Taf. XXXVII—XXXIX.

—— [4.] Die Protozoen und die Zellentheorie. Arch. f. Protistenkunde. Bd. I. 1902. S. 1—40.

—— [5.] Über Wesen und Bedeutung der Befruchtung. Sitzungsber. der math.-phys. Kl. d. Kgl. Bayer. Akad. d. Wiss. Bd. XXXII. 1902. S. 57—73.

—— [6.] Über das Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma. Lehmann, München 1903. 24 Seiten.

—— [7.] Über Korrelation von Zell- und Kerngröße und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. Biol. Zentralbl. Bd. XXIII. 1903. S. 49—62, 108—119.

—— [8.] Über das Problem der sexuellen Differenzierung. Verhandl. d. Deutsch. Zool. Gesellsch. Bd. XV. 1905. S. 186—214.

—— [9.] Über den Chromidialapparat und den Dualismus der Kernsubstanzen. Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. in München. 1907. 22 Seiten.

—— [10.] Über die Ursache des Todes. Beilage zur Allgemeinen Zeitung. Jahrg. 1906. Numm. 288, 289. S. 489—492; 497—501.

—— [11.] Über physiologische Degeneration bei Actinosphaerium Eichhorni. Nebst Bemerkungen zur Ätiologie der Geschwülste. Jenaische Denkschriften. Bd. XI. Festschr. v. Häckel. 1904. S. 301—354. Taf. IX—XII.

Jijima, J. Untersuchungen über den Bau nnd die Entwicklungsgeschichte der Süßwasser-Dendrocoelen (Tricladen). Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XL. 1884. S. 359—464. 3 Textfig. Taf. XX—XXIII.

Jörgensen, M. [1.] Untersuchungen über die Eibildung bei Nephelis vulgaris Moquin Tandon (Herpobdella atomaria Carena). Arch. f. Zellforsch. Bd. II. 1909. S. 279—347. Taf. XX—XXIII.

—— [2.] Zur Entwicklungsgeschichte des Eierstockeies von Proteus anguineus (Grottenolm). [Die Wachstumsperiode.] Festschr. f. R. Hertwig. 1910. Bd. I. S. 439—634. Taf. XXXIII—XLV.

Kemnitz, G. v. Die Morphologie des Stoffwechsels bei Ascaris lumbricoides. Ein Beitrag zur physiologisch-chemischen Morphologie der Zelle. Arch. f. Zellforsch. Bd. VII. 1912. S. 463—603. 9 Textfig. Taf. XXXIV—XXXVIII.

Mattiesen, E. Ein Beitrag zur Embryologie der Süßwasserdendrocoelen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXVII. 1904. S. 274—361. 3 Textfig. Taf. X—XIII.

Mayer, P. Zur Färbung des Glykogens. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXVI. 1909. S. 513—524.

Minot, C. S. Studien an Turbellarien. Beiträge zur Kenntnis der Plathelminthen. Arb. a. d. zool.-zoot. Inst. in Würzburg. Bd. III. 1876—1877. S. 405—471. Taf. XVI—XX.

Moore, J. E. S. On the structural changes in the reproductive cells during the spermatogenesis of Elasmobranchs. Quart. Journ. micr. Sc. Vol. XXXVIII. 1895.

Obst, P. Untersuchungen über das Verhalten der Nucleolen bei der Eibildung einiger Mollusken und Arachnoiden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXVI. 1899. S. 161—213. 5 Textfig. Taf. XII—XIII.

Popoff, M. [1.] Eibildung bei Paludina vivipara und Chromidien bei Paludina und Helix. Mit Anhang: Zu der Frage nach dem Spermatozoendimorphismus bei Paludina vivipara. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX. 1907. S. 43—129. 1 Textfig. Taf. IV—VIII.

—— [2.] Depression der Protozoenzelle und der Geschlechtszellen der Metazoen. Arch. f. Protist. Festschr. f. R. Hertwig. 1907. S. 43—82. 5 Textfig. Taf. IV.

—— [3.] Experimentelle Zellstudien. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908. 18 Textfig. 12 Kurven.

—— [4.] Experimentelle Zellstudien II. Über die Zellgröße, ihre Fixierung und Vererbung. Arch. f. Zellforsch. Bd. III. 1909. S. 124—180. 10 Textfig. und Kurven. Taf. V—VI.

Schleip, Wald. Die Entwicklung der Chromosomen im Ei von Planaria gonocephala Dug. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. Bd. XXIII. 1907. S. 357—380. Taf. XXIII—XXIV.

Schultze, Oskar. Über die Anwendung der Osmiumsäure und eine neue Osmiumhämatoxylinmethode. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXVII. 1910. S. 465—475.

Stoppenbrink, F. Der Einfluß herabgesetzter Ernährung auf den histologischen Bau der Süßwassertricladen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXIX. 1905. S. 496 bis 547. 3 Textfig. Taf. XXV.

Vejdovský, F. [1.] Neue Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung. Prag 1905. Königl. Böhm. Ges. d. Wiss. 103 Seiten. Textfig. I—V. Taf. IX.

—— [2.] Zum Problem der Vererbungsträger. Königl. Böhm. Ges. d. Wiss. Prag 1911—1912. 184 Seiten. 16 Textfig. 12 Taf.

Wilhelmi, J. Tricladen. Fauna und Flora des Golfes von Neapel. Zool. Stat. zu Neapel. 32. Monographie. Berlin 1909. XII und 405 Seiten. 80 Textfig. 16 Taf.

Zieglwallner, Fr. Über die Fixierung und Färbung des Glykogens und die mikroskopische Darstellung desselben gleichzeitig neben Fett. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXVIII. 1911. S. 152—157.

Zimmermann, A. Über die chemische Zusammensetzung des Zellkernes I. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XII. 1895. S. 458—477. Taf. II.

Tafelerklärung.

Sämtliche Figuren beziehen sich auf *Dendrocoelum lacteum*. Die Fig. 25 stellt nur eine optische Ebene der Zelle dar; alle andern Figuren sind Projektionsbilder, das heißt, sie erstreben alles darzustellen, was in der Schnittdicke zu sehen ist, die Strahlung des Centriols und die Randkörnchen (in Fig. 30, 31, 44) sind aber doch nur aus einer optischen Ebene eingezeichnet. Die Struktur des Zellkörpers ist in den meisten Figuren nicht dargestellt. Die in den Zellkörpern nicht bezeichneten schwarzen Granula sind alle Chromidialgranula und keine Dotterkörnchen.

Die Figuren habe ich mit einem Reichertschen Mikroskop nach dem neuen Apáthy-Modell, und mit dem Abbeschen Zeichenapparat verfertigt. Meistens habe ich gemäß der Vorschrift von Apáthy mit vollständiger Ausnutzung der Lichtquelle bei vollem Beleuchtungskegel eines Immersionscondensors von 1,4 Apertur gearbeitet. Dabei habe ich die unten folgenden und bei den betreffenden Figuren nochmals angegebenen Vergrößerungen unter folgenden Umständen benutzt:

Vergrößerung	Objektivlinsen	Oculare	Tubuslänge[1]) in mm.	Zeichenentfernung in mm[2])
650× =	8*a* + [3])	4	163	200
1040× =	$^1/_{12}$ Homog. Imm. mit Apert. 1.30 (Reichert)	4	155	193
1120× =	»	4	163	193
1170× =	»	4	163	200
1960× =	»	Comp.-Oc. 12 (Zeiss)	163	200
2000× =	»	»	171	200
2540× =	»	»	163	310

Abkürzungen:

centr = Centriol; *mit* = Mitochondrien; *paras* = schmarotzendes Protozoon; *rk* = Randkörnchen.

Tafel IV.

Ovogonien:

Fig. 1. Herbsttier. Ovogonium im Spiremstadium mit Nucleolen. Sublimat-Kochsalzlösung. Paraffin. 5 μ. Eisenhämatoxylin (je 1 Tag). Vergr. 1040×.

Fig. 2. Herbsttier. Ovogonium mit zerbröckeltem Spirem und mit nur einem Nucleolus im Schnitt. (Im Zellkörper waren noch zwei Granula, diese fallen aber bei der Projektion in den Kernraum hinein; daher nicht eingezeichnet.) Sublimat (konz.)-Eisessig (1%). Paraffin. 5 μ. Eisenhämatoxylin (je 1 Tag). Vergr. 1040×.

---

[1]) Gerechnet von dem oberen Rande des Oculars bis zur Einschraubstelle des Objektivs.

[2]) Darunter verstehe ich die Höhe des oberen Ocularrandes über der Zeichenfläche.

[3]) Eine entsprechend bezeichnete Korrektionstrockenlinse von Reichert.

Fig. 3. Der Anfang der Chromosomenausbildung in Ovogonien von derselben Schnittreihe, wie die vorige Figur. Vergr. 1040×.

Fig. 4. Frühlingstier. Ovogonium mit ausgebildeten und schon ein wenig gespaltenen Chromosomen und mit noch beibehaltenen Nucleolen. Im Zellkörper chromatische Granula. Zupfpräparat. ZENKERsche Flüssigkeit (50° C). Eisenhämatoxylin (je 1 Tag). Vergr. 1170×.

Fig. 5 u. 6. Herbsttier. Ovogonienteilungen mit in den Zellkörper ausgetretenen Nucleolen und kleineren chromatischen Granula im Zelleib. Behandlung wie in Fig. 1. Vergr. 1040×.

Fig. 7. Spätherbsttier. Ovogonium in der letzten Teilung, mit in den Zellkörper ausgetretenen Nucleolen. Aus einem Mitochondrienpräparat mit Behandlung nach BENDA und mit Färbung in Eisenhämatoxylin (je 1 Tag nach MEVES). Centriolenstrahlung. Mitochondrien. Chromatische Granula. Doppelt in Celloidin-Paraffin. 3 μ. Vergr. 1960×.

Fig. 8. Herbsttier. Telophase einer letzten Ovogonienteilung mit Verbindungsfasern zwischen den Tochterchromosomen. Reduzierte Zahl der Chromosomen in Tulpenkronenform. (Die chromatischen Granula wurden mit Hilfe der zwei nebenstehenden Zellgrenzen aus dem nächsten Schnitt eingezeichnet.) Behandlung wie in Fig. 1. Vergr. 1040×.

Ovocyten:

Fig. 9. Frühlingstier. Die ersten Zeichen der Orientierung der leptotänen Schleifen der jungen Ovocyten. Anfang der Kernmembranbildung. Im Zellkörper blaßgefärbte Mitochondrien. Fixierung in 2% Kalibichromicum — $^1/_2$% Osmium im Thermostat bei 30° C, 3 Tage. Färbung ohne Auswaschen nach SCHULTZEs Osmium-Hämatoxylinmethode. Celloidin-Paraffin. 3 μ. Vergr. 1960×.

Fig. 10. Spätherbsttier. Vorgerücktes Leptotänstadium. Im Kern nicht sämtliche Schleifen eingezeichnet. Im Zellkörper Mitochondrien und zwei Chromidialgranula. BENDA-Methode. 3 μ. Vergr. 1960×.

Fig. 11. Frühlingstier. Vier leptotäne Kerne in einem ungeteilten Protoplasma. Zupfpräparat. ZENKERsche Flüssigkeit (60° C). Eisenhämatoxylin (je 1 Tag). Vergr. 1960×.

Fig. 12. Frühlingstier. Anfang des Diplotänstadiums. Chromatinabgabe durch die Kernmembran. Zupfpräparat. ZENKERsche Flüssigkeit (50° C). Eisenhämatoxylin (je 1 Tag). Vergr. 1960×.

Fig. 13. Frühlingstier. Diplotänstadium mit Chromatinabgabe, hinein in den Nucleolus und hinaus in den Zellkörper. ZENKERsche Flüssigkeit, einige Sekunden bei 50° C, weiter (12 Stunden) bei Zimmertemperatur. Doppelt in Celloidin-Paraffin. 4 μ. Eisenhämatoxylin (je 1 Tag). Vergr. 1960×.

Fig. 14. Herbsttier. Diplotänstadium, wo das Protoplasma von dem Orientierungspol durch die Nachbarzellen abgedrängt ist. Sublimat (60° C), einige Minuten nachher im kalten Paraffin. Eisenhämatoxylin (je 1 Tag). 5 μ. Vergr. 1040×.

Fig. 15. Herbsttier. *a* und *b* sind dieselben Zellen, zuerst mit ZIMMERMANNS Fuchsin-Jodgrün behandelt (*b*) und dann mit Eisenhämatoxylin (je 1 Tag) neugefärbt: zur Erläuterung des Nucleoluswachstums und der Zusammensetzung. Diplotänes Bukettstadium. Konz. Sublimat. Paraffin. 5 μ. Vergr. 1070×.

Fig. 16—17. Frühlingstier. Kerne, der Auflösung des Buketts nahe stehend. Nucleolusbildung. Chromatinanhäufung an den Chromosomenenden. Zupfpräparat. ZENKERsche Flüssigkeit (50° C). Eisenhämatoxylin (je 1 Tag). Vergr. 16 : 1960×, 17 : 1170×.

Fig. 18. Frühlingstier. Diplotänes Bukettstadium. Chromatinaustreten in den Zellkörper hinaus in Fadenform. Daneben die Kontur derselben Zelle aus dem nächsten Schnitt. Behandlung wie bei Fig. 13. Vergr. 1960×.

Fig. 19 u. 20. Frühlingstier. Ende des diplotänen Buketts und Übergang in strepsitänes, mit angefangener Spaltung. Die parallele oder nicht parallele Anordnung der Chromiolen. Nucleoluswachstum und Chromatinhinströmung an die Chromosomenenden. In Fig. 19 bedeutet rechts im Kern der Kreis ein projiziertes Chromidialgranulum. Behandlung wie bei Fig. 16 und 17. Vergr. 1960×.

Fig. 21. Herbsttier. Diplotänes Bukett quer auf die Orientierungsrichtung getroffen. Anschließen des von Schleifen abgeströmten Chromatins an den Nucleolus. Behandlung wie bei Fig. 14. Vergr. 1040×.

Fig. 22. Herbsttier. *b*: die Chromiolen in diplotänem Bukett und *a*: ihr hochgradiges Verschwinden während des strepsitänen. Mitochondrienpräparat nach BENDA. 3 μ. Vergr. 1960×.

Fig. 23. Frühlingstier. Die erste Phase des Strepsinema, Moment der Chromosomenspaltung nach dem Bukettstadium an 3 Chromosomenpaaren. Behandlung wie bei Fig. 16 und 17. Vergr. 1170×.

Fig. 23*A*. Frühlingstier. Parallele Aneinanderlegung (Konjugation) der Chromosomen am Beginn des diplotänen Buketts. *a*: aus einem Kern, wo nur noch dieses Paar nicht vollständig adhäriert war, die andern sechs Paare waren schon »konjugiert«; in *b* hatten nur noch zwei Paare nicht »konjugiert«, aber auch diese waren schon parallel nebeneinander, und an den Enden schon zusammengeklebt. Um *b* ist die Kerngröße einer Zelle aus demselben Schnitt punktiert, in dem nach dem Bukettstadium die Chromosomenpaare sich zu spalten angefangen hatten. Behandlung wie bei Fig. 13. Vergr. 2000×.

Fig. 24. Frühlingstier. Spätstrepsinema- beziehungsweise Tetradenformen aus Zupfpräparaten nach ZENKERscher Fixierung (50° C). Vergr. 1170×.

Fig. 25. Herbsttier. Erstes Sichtbarwerden des Centriols mit Hilfe seiner Strahlung. Junges Strepsinemastadium an dem Anfange der zweiten Wachstumsperiode. Mitochondrienpräparat nach BENDA. 3 μ. Vergr. 1960×.

Fig. 26. Herbsttier. Anfang der zweiten Wachstumsperiode. Junges Strepsinema. Auftreten der Randkörnchen in Nestern wie bei voriger Figur. Warmes Sublimat. Paraffin. 5 μ. Hämatein I. A. (1 Stunde). Vergr. 1040×.

Fig. 27. Frühlingstier. Kern nach der Verkürzung des Strepsinema mit den 8-förmigen Tetraden (eine nicht eingezeichnet, weil sie über dem Nucleolus lag). Drei von diesen hängen an dem Nucleolus. Aus Zupfpräparat. ZENKERsche Flüssigkeit (50° C). Eisenhämatoxylin (je 1 Tag). Vergr. 2540×.

Fig. 28. Frühlingstier. Der Kern einer reifen Zelle mit sieben Tetraden. Behandlung wie bei Fig. 27. Vergr. 1170×.

Fig. 29. Frühlingstier. Ein beim Zerzupfen beschädigter Kern. Die an dem Nucleolus haftenden Tetraden wurden, als sie von dem Nucleolus weggezogen waren, nicht abgerissen, sondern sie haben den Nucleolus ausgezogen. Behandlung wie bei Fig. 27. Vergr. 1170×.

Fig. 30 u. 31. Frühlingstier. Reife Eizellen mit kleinem stäbchenförmigem Centriol und mächtiger Strahlung. Randkörnchen und Chromidialgranula. In Fig. 31 fleckiger Zellkörper. Zupfpräparate mit ZENKERscher Flüssigkeit (40° C) fixiert. Eisenhämatoxylin (je 1 Tag). Vergr. 30: 1170× ; 31: 650×.

Fig. 32. Frühlingstier. Die Nucleolen und die anhaftenden Schleifen bzw. Strepsinematetraden in ZIMMERMANNscher Fuchsin-Jodgrünfärbung (10 Min. und kurzes Abspülen in der Diff.-Flüssigkeit). *a* aus Schnitt nach 10% Sublimat (in Kochsalzlös.)-1% Eisessig. Zelloidin-Paraffin; *b*, *c*, *d* nach ZIMMERMANNS Vorschriften mit 3% Sublimat- 1% Eisessig fixiert in Zupfpräparaten. *d* Diplotänstadium, *a*, *c* zweite Wachstumsperiode. Was an den Figuren hell oder grau ist, war im Präparat hellrot. Vergr. 1960×.

Fig. 33. Frühlingstier. Der Kern einer pathologisch veränderten Zelle nach ZIMMERMANNS Vorschriften (3% Sublimat- 1% Eisessig) behandelt und mit Fuchsin-Jodgrün gefärbt. Das Chromatin der Strepsinemen färbt sich wie der Nucleolus. Vergr. 1170×.

Fig. 34. Frühlingstier. Der Nucleolus an die Kernmembran angeheftet in einer zur Teilung reifen Eizelle. Behandlung wie bei Fig. 16—17. Vergr. 1170×.

Tafel V.

Fig. 35. Frühlingstier. Teilung der Chromidialgranula. Behandlung wie bei Fig. 13. Vergr. 1960×.

Fig. 36—39. Herbsttier. Die verschiedenen Vermehrungsformen der Chromidialgranula und die Auflösung einiger (36*a*, 37, 39). Konz. Sublimat (in Kochsalzlös.). Paraffin. 5 μ. Eisenhämatoxylin (je 1 Tag). Vergr. 1120×.

Fig. 40. Auflösungsformen der Chromidien, gezeichnet von denselben Schnitten wie Fig. 35. Vergr. 1960×.

Fig. 41. Frühlingstier. Erste Reifeteilung mit eindringendem Parasiten an der Zelloberfläche, den MATTIESEN als Centrosom beschrieben hatte. ZENKERsche Flüssigkeit (hineingeworfen in 10 ccm Flüssigkeit von 60° C, die man darauf bei Zimmertemperatur abkühlen läßt; 2 Stunden). Doppelt in Celloidin-Paraffin. 10 μ. Hämatein I. A. (10 Min.). Vergr. 1170×.

Fig. 42. Ein schmarotzender Protist (siehe Fig. 41) mit strahligen Pseudopodien aus einer reifen Eizelle. Behandlung wie bei Fig. 13. Vergr. 1170×.

Fig. 43—50. Sämtliche Figuren aus einer Schnittreihe eines Tieres, kurz vor der Eiausstoßung. Die Teilung des Centriols. Ausbildung des Centrosomas (47—50). Die Ansammlung der Chromidialgranula um die Centriolen (43—46 und 50) und Hineindringen der Granula zu den Centriolen, um diese zu vergrößern (47—49). Mächtige Strahlung. Ein echtes Centrosom war nur in Fig. 50 zu unterscheiden, in Fig. 43—45 war nur ein homogener Hof als das umgebende Protoplasma zu sehen. ZENKERsche Flüssigkeit (bei Zimmertemperatur 12 Stunden). Zuerst Boraxcarmin in toto. Doppelt in Celloidin-Paraffin. 8 μ. Nach Ausziehen des Boraxcarmins Eisenhämatoxylin (je 1 Tag). Vergr. 1170×.

Fig. 51 u. 52. Frühlingstier. Reifeteilungen in Spindelrichtung (51) und in der Äquatorialplatte (52) getroffen. Tetradenformen, sieben Tetraden in Fig. 52. Riesengroßes Teilungscentriol verhältnismäßig in kleinem Centrosoma (51). In Fig. 51 traten die Spindelfasern nicht so scharf hervor, wie es gezeichnet wurde. Behandlung wie bei Fig. 13. 10 μ. Vergr. 1170×.

Fig. 53. Frühlingstier. Ein Kern am Ende des leptotänen Stadiums mit schon einem Paar halbwegs »konjugierter« Chromosomen. Behandlung wie bei Fig. 13. 10 μ. Vergr. 2000×.

Fig. 53A. Frühlingstier. Eine pathologisch veränderte Eizelle, abgehoben von ihrer Umgebung (äußere Linie) mit roher, spongiöser Struktur und mit vielleicht im Austreten begriffenem Nucleolus. Warme ZENKERsche Flüssigkeit. Paraffin. 5 μ. Vergr. 1040×.

Fig. 54—62. Das Verhältnis zwischen Kern und Zellkörper in den Urovogonien, Ovogonien und in den Ovocyten von verschiedenem Entwicklungsgrad. Die Fig. 54, 55, 57A und 59B aus Schnitten eines und desselben jungen Ovars (fixiert Mitte August), in dem erst noch einige diplotäne Ovocyten erschienen sind. Die andern Figuren stammen wieder aus einem und demselben Ovar eines eilegenden Tieres. Zupfpräparat. Das zu den vorigen Figuren dienende Material wurde in kalter, das zu den letzteren in warmer (50° C) ZENKERscher Flüssigkeit fixiert.

Fig. 54. Urovogoniumzelle.

Fig. 55. Ovogonium in Teilgröße.

Fig. 56. Älteres Ovogonium im zerbröckeltem Spiremstadium (Teilgröße).

Fig. 57A. Leptotäne Bukettovocyte aus jungem Ovar.

Fig. 57B. Leptotäne Bukettovocyte aus geschlechtsreifem Ovar.

Fig. 58. Übergang zwischen Leptotän- und Diplotänstadium (Synapsisgröße, denn dahin fällt bei andern Tieren die Synapsis).

Fig. 59A. Anfang des Diplotänstadiums, aus geschlechtsreifem Ovar.

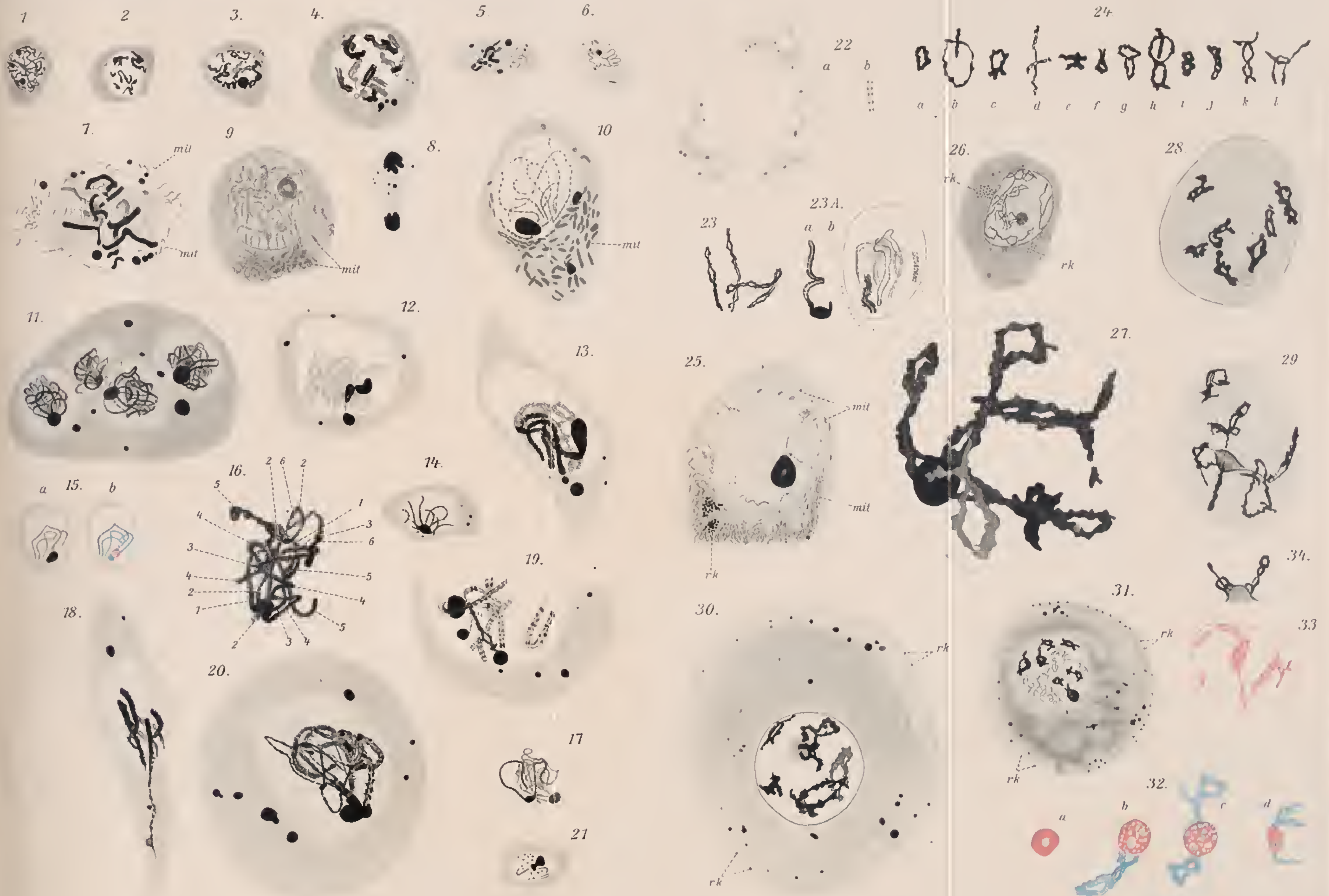
Fig. 59B. Anfang des Diplotänstadiums, aus einem jungen Ovar.

Fig. 60. Vorgerücktes Diplotänstadium.

Fig. 61. Übergang zwischen Diplotän- und Strepsitänstadium.

Fig. 62. Junge strepsitäne Ovocyte beim Beginn der zweiten Wachstumsperiode.

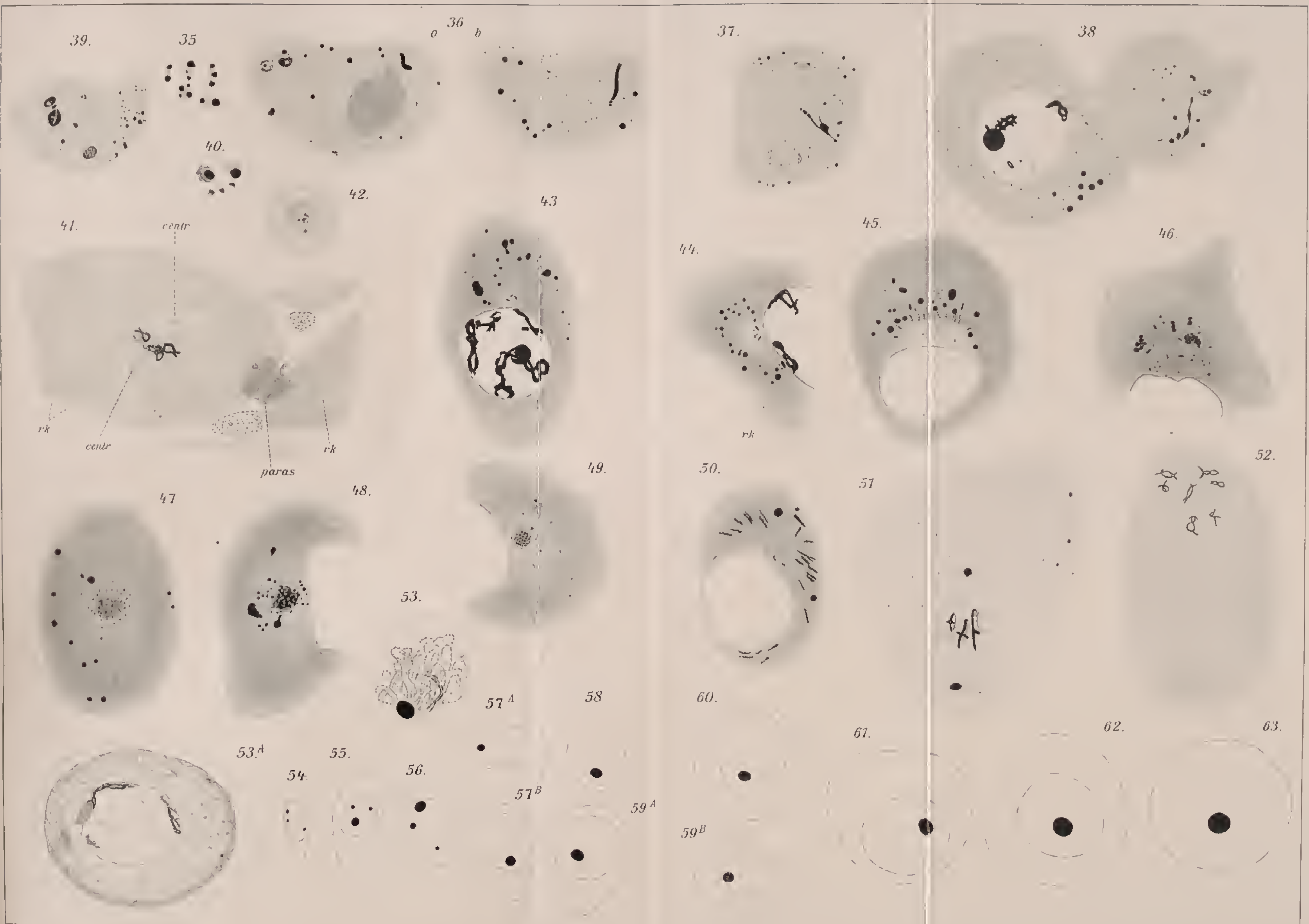
Fig. 63. Kern einer reifen Ovocyte aus Zupfpräparat. ZENKERsche Flüssigkeit.



Gelei gez.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.



Geler gez. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin. Lith Anst v. Johannes Arndt, Jena.

Über die Chromosomen der Tachea (Helix) hortensis, Tachea austriaca und der sogenannten einseitigen Bastarde T. hortensis × T. austriaca.

Von

F. Baltzer,
Privatdozent an der Universität Würzburg.

(Aus dem Zoologischen Institut Würzburg.)

Mit 1 Textfigur und Tafel VI.

Die vorliegende Arbeit enthält die cytologische Untersuchung der von Herrn Professor Lang in Zürich gezüchteten »falschen (einseitigen) Bastarde« von *Tachea hortensis* und *T. austriaca.* Die Zuchtversuche (Lang 1911) bestanden darin, daß jeweilen eine jungfräuliche *T. hortensis* mit einer *T. austriaca* in eine Zuchtschachtel zusammengesperrt wurde. *Hortensis* brachte Nachkommen hervor, welche reinen *Hortensis*-Charakter zeigten. Die Deutung dieser Tiere war darnach von Anfang zweifelhaft. Sie konnten echte Bastarde sein, konnten aber auch durch Selbstbefruchtung des mütterlichen Tieres oder durch parthenogenetische Entwicklung aus *Hortensis*-Eiern entstanden sein. Selbstbefruchtung hielt Lang in jener Arbeit (1911) für »am wenigsten wahrscheinlich« (l. c. S. 135). Er hatte von »keinem einzigen, isoliert gehaltenen Exemplar irgend einer *Helix*-Art, das noch im jungfräulichen Zustande isoliert wurde, entwicklungsfähige Nachkommenschaft erhalten« (l. c. S. 135). Auch normale Parthenogenese mußte darnach für »nicht gerade wahrscheinlich« (S. 136) gelten; am wahrscheinlichsten aber war, »daß wir es mit durch artfremdes Sperma induzierter Parthenogenese zu tun haben« (ebd.).

Eine cytologische Prüfung konnte über diese Frage einige Aufklärung geben. Herr Professor Lang stellte mir zu diesem Zwecke einige Tiere zur Verfügung und zwar drei erwachsene Individuen aus dem in seiner Arbeit (1911 S. 133) erwähnten Kreuzungsversuch *E.* Für die Liberalität, mit der er mir dieses und anderes Material aus so mühevollen Versuchen überließ, möchte ich hier meinen besten Dank aussprechen.

Die Untersuchung hat ergeben, daß es sich keinesfalls um Bastarde handelt, daß *T. austriaca* an der Erzeugung der genannten Nachkommen

überhaupt unbeteiligt ist. Obschon damit die Bezeichnung »Bastard« hinfällig wird, werde ich diesen Namen der Einfachheit wegen doch noch gebrauchen.

Ende 1912, als ich am Abschließen meiner Arbeit war, erschien eine neue Mitteilung[1]), worin LANG seinen Standpunkt auf Grund neuer Experimente abänderte. Er hatte unterdessen als einen seltenen Ausnahmefall feststellen können, »daß sich eine isoliert gehaltene jungfräuliche *Helix hortensis* fortgepflanzt hat«. Auch von dieser Zucht stellte mir Herr Professor LANG einige Exemplare für cytologische Untersuchungen zur Verfügung. Es ist nun auf Grund dieses Falles nach LANGS Meinung »doch wohl wahrscheinlich, daß Selbstbefruchtung und nicht normale Parthenogenese stattfindet« (1912, S. 251). Es führte somit das Zuchtexperiment und, wie sich zeigen wird, die cytologische Untersuchung selbständig zu gleichem Resultat.

Außer den Resultaten der Untersuchung des Bastards ist auch eine Anzahl von Beobachtungen über die Chromatinverhältnisse der beiden Versuchsspecies *T. hortensis* und *T. austriaca* in die Arbeit aufgenommen. Exemplare von *T. austriaca* wurden mir von Herrn Dr. P. KAMMERER in Wien und Herrn Professor G. SAJOVIC in Laibach zugesandt. Beiden Herren meinen besten Dank.

Die cytologische Untersuchung erstreckte sich auf die Stadien der Spermatogenese.

I. Die Spermatogenese von Tachea hortensis.

KLEINERT (1909) hat den Verlauf der Samenreifung für *T. hortensis* und *T. nemoralis* einläßlich beschrieben. Beide Species stimmen überein. Ich gebe in Kürze den für uns wesentlichen Teil seiner Arbeit wieder.

1. Die Spermatogonien enthalten 48, die Spermatocyten 24 Chromosomen. KLEINERT findet in beiden Reifungsteilungen 24 Elemente.

2. Die 48 Chromosomen der Spermatogonien sind von verschiedener Größe: 46 sind klein und kugelig, zwei sind besonders groß und schleifenförmig. Sie übertreffen — man vergleiche KLEINERTS Fig. 11 — die kleineren um ein Vielfaches. Dieser Größengegensatz bleibt auch in den späteren Stadien nachweisbar. Wir finden in der Spermatocyte I. Ordnung die

[1]) Die von Herrn Professor LANG in dieser Arbeit gegebene Zusammenfassung meiner cytologischen Untersuchung des »Bastards« berücksichtigt, da ich mit der Bearbeitung der Spermatogenese von *T. austriaca* damals noch nicht fertig war, noch nicht die Unterschiede im Chromosomenbestand von *T. hortensis* und *T. austriaca*. Es ließ sich deshalb dort die Beteiligung von *T. austriaca* bei der Erzeugung der einseitigen Bastarde noch nicht ausschließen.

beiden großen Chromosomen konjugiert. Ihre Form — die lange Schleife — ist noch erkennbar. Allmählich werden sie kürzer und dicker, schließlich zu einer großen klumpigen Tetrade, immer an Größe den übrigen weit überlegen (KLEINERT, Fig. 23—28). Nur in der Metaphase der ersten Reifeteilung erscheinen sie noch als Schleifen, in Form von spitzen Winkeln.

Etwas schwerer nachzuweisen sind sie in der II. Reifeteilung, wo die Schleifenform durch eine kompakte kugelige Gestalt ersetzt ist (KLEINERT, Fig. 33—35).

Diesen Angaben KLEINRETS habe ich folgendes hinzuzufügen. In den Spermatogonien fanden sich — den Angaben des Autors entsprechend — regelmäßig die beiden großen Elemente. Die Schleifenform erhält sich nach der Konjugation während aller Stadien der I. Reifeteilung. Ein kompaktes, klumpiges Stadium, wie es KLEINERT in seiner Fig. 29 für *Nemoralis* und ebenso für *Hortensis* in Textfig. 16 und 17 abbildet, habe ich nur selten gefunden. Dieser Punkt — an sich bedeutungslos — kommt für die Beurteilung des Bastards und auch für die Frage, welche der beiden Reifeteilungen als Reduktionsteilung anzusehen ist, in Betracht.

In Fig. 1 habe ich eine Äquatorialplatte eines Spermatogoniums in Polansicht abgebildet. Die beiden großen Schleifen sind äußerst deutlich.

In Fig. 2 ist ein ruhender Kern einer Spermatocyte I. dargestellt. Er steht kurz vor der Auflösung der Membran. Die beiden Sphären, welche die I. Reifungsspindel bilden werden, sind schon entwickelt, in der Zeichnung aber weggelassen, um die Chromosomen nicht zu verdecken. Das große aus den beiden Schleifen bestehende Doppelelement — im Kern oben links — ist deutlich erkennbar.

In Fig. 3 *a—d* sind einige weitere Formen dieses uns für die Beurteilung des Bastards wichtigen Elementes abgebildet, alle aus ruhenden Kernen von Spermatocyten I. Ordnung.

Fig. 4 gibt eine Äquatorialplatte einer I. Reifungsteilung. Das große Element zeigt eine sehr charakteristische und in den meisten Fällen wahrnehmbare vierlappige Gestalt. Wie sie zustande kommt, erklärt uns wohl am besten Fig. 3*a* und Fig. 2. Man braucht nur anzunehmen, daß sich die vier Arme des Kreuzes (in Fig. 2 ist der vierte, weil nach unten gerichtet, in der Zeichnung verdeckt) in eine Ebene legen, wodurch ein Bild wie in der Äquatorialplatte von Fig. 4 zustande kommen muß.

Fig. 5 *a* und *b*[1]) zeigt die beginnende Spaltung der Chromosomen. Auch hier ist die Form der großen Tetrade (Fig. 5*a*) charakteristisch: Ein Doppelbügel, mit einer queren Verbindung durch die Mitte. Die

[1]) Dieses Präparat stammt aus einem andern Tier als Fig. 1—4 und 6.

andern, wesentlich kleineren Elemente zeigen Hantel- oder typische Tetradenform.

In Fig. 6 *a* u. *b* ist eine II. Reifungsspindel im Stadium der Metaphase abgebildet. In Fig. 6*b* ist in beiden Tochterplatten das große Chromosom als besonders großer Körper wahrnehmbar, der sich hier nun nicht mehr durch eine besondere typische Gestalt, sondern nur mehr durch Größe auszeichnet, wie es KLEINERT angegeben hat.

Von Interesse sind die Chromosomenzahlen. Meine Zählungen weichen von denjenigen KLEINERTS ab. Sichere Ergebnisse können wohl nur an den ruhenden vor der I. Teilung stehenden Kernen der Spermatocyten I. Ordnung vorgenommen werden. Die Chromosomen sind in diesem Stadium — Fig. 2 — kompakt, deutlich begrenzt, über die ganze innere Fläche der Kernmembran verteilt, also keineswegs sehr dicht gelagert[1]). Stets zählte ich nur 22[2]) Chromosomen, während KLEINERT 24 angibt. Mit meinem Resultat stimmen auch die Zahlen von früheren und späteren Stadien überein: Die Spermatogonie von Fig. 1 enthält, wie zu erwarten, in der Äquatorialplatte 44 Chromosomen; natürlich hat ein solches Ergebnis bei so hoher Zahl und enger Lagerung der Elemente nur einen bedingten Wert. Die Äquatorialplatte der I. Reifeteilung von Fig. 4 enthält 22 oder 23 Chromosomen. Gerade hier zeigt sich, wie leicht Irrtümer geschehen können. Sobald nämlich (vgl. Fig. 5) die Trennung der Chromosomen einsetzt, werden in den Polansichten leicht zusammengehörende Tochterelemente gesondert gezählt und die Zahlen damit zu groß.

Es ist mir gegenüber den genannten Beobachtungen und in Rücksicht auf die Fehlerquellen unmöglich, sicher zu sagen, ob die Chromosomenzahl in den Spermatocyten stets 22, oder ob sie bald 22, bald 23 ist. Jedenfalls aber — und dies wird gegenüber *T. austriaca* hervorzuheben sein — ist sie in meinem Material[3]) nicht 24. Die KLEINERTschen Bilder scheinen mir übrigens die Zahl 22 ohne große Schwierigkeit zuzulassen, so seine Textfig. 16 (S. 476), wo vier Chromosomen paarweise so nahe beieinander liegen, daß sie als zusammengehörige Tochterchromosomen angesprochen werden dürften. Bei seiner Textfig. 21 käme man in ähnlicher Weise wenigstens auf 23.

---

[1]) Die Dicke der Schnitte muß dabei 14—17 μ betragen. Man findet in solch dicken Schnitten zahlreiche nicht angeschnittene Kerne. Zählungen an Kernen, die sich über mehr als einen Schnitt erstrecken, sind unzuverlässig, weil Chromosomen zerschnitten oder — besonders häufig — verschleppt werden können.

[2]) Im einzelnen erhielt ich bei klaren Fällen folgende Zahlen: 22, 22, 21 oder 22, 22, 22 oder 23, 22, 22, 22 (Fig. 2), 22.

[3]) In Bern, Zürich, Wien und Würzburg gesammelt.

II. Die Spermatogenese von Tachea austriaca.

Als Material dienten mir Tiere von Wien und Laibach. Sie wurden nach der braunen Farbe an der Lippe der Mündung, nach der Form des Gehäuses und nach der Morphologie des Geschlechtsapparates als *austriaca* bestimmt. In Fig. 7—14 sind die verschiedenen Stadien der Spermatogenese dieser Species abgebildet. In den Spermatogonien fehlen die beiden für *T. hortensis* typischen schleifenförmigen Elemente. Die Chromosomen zeigen zwar beträchtliche Größendifferenzen, ohne daß aber ein Paar von derart alle andern übertreffendem Maß wie bei *hortensis* nachweisbar wäre. Man mag dies aus Fig. 7, der Äquatorialplatte einer Spermatogonie, ersehen. Ganz zuverlässig ist freilich dieses Stadium nicht. Nicht selten finden sich scheinbar doch größere Chromosomen, die sich in manchen Fällen als Verklumpungen zweier enge gelagerter kleinerer Elemente nachweisen lassen. Daß es sich auch in Figuren, wo eine solche Auflösung unmöglich ist, um Verklumpungen handelt, ergibt sich mit Sicherheit aus den weiteren Stadien. In den Spermatocyten finden wir niemals besonders große schleifenförmige Elemente.

Fig. 8 und 9 stellen ruhende Kerne aus Spermatocyten I. Ordnung dar, Fig. 9 *a* u. *b* einen Kern kurz vor Auflösung der Membran, mit kompakten Chromosomen, Fig. 8 *a* u. *b* einen etwas weniger entwickelten Kern mit noch gezackten Elementen. Größere Differenzen in der Chromosomengröße als in Fig. 9*a*, mit zwei relativ großen Tetraden habe ich niemals gefunden. Man vergleiche damit die entsprechenden Fig. 2 und 3 bei *T. hortensis*. Es ergibt sich sofort, daß die schleifenförmige Tetrade bei *T. austriaca* fehlt.

Fig. 10 zeigt die Chromosomen der I. Reifungsspindel in der Äquatorialplatte, Polansicht. Alle Elemente sind kugelig, keines von vierlappiger Form wie bei *T. hortensis*.

Fig. 11 *a—c*: I. Reifungsspindel in Seitenansicht. Die Chromosomen stehen im Begriff, auseinanderzuweichen. Die typische Doppelbügelform der großen Tetrade von *T. hortensis* fehlt auch hier.

Fig. 12: Äquatorialplatte aus einer Spermatocyte II. Ordnung.

Fig. 13 *a—c*: II. Reifeteilung, Ansicht von der Seite. Die Chromosomen sind in der Äquatorialplatte angeordnet. Der Unterschied zwischen *T. hortensis* und *T. austriaca* ist hier nicht bedeutend, weil das große Element von *T. hortensis* in diesem Stadium nicht mehr Schleifenform, sondern kurze kugelige oder klumpige Gestalt hat.

Als Resultat der Vergleichung von den entsprechenden Stadien der Spermatogenese von *T. austriaca* und *T. hortensis* ergibt sich also folgendes:

Die beiden für die Spermatogonien von *T. hortensis* charakteristischen langen Schleifen fehlen in *T. austriaca*, infolge dessen auch die in den Spermatocyten I. Ordnung von *T. hortensis* vorkommende aus den Schleifen hervorgegangene, an ihrer besonderen Form kenntliche und besonders große Tetrade. Es kann auf Grund dieses Merkmals der Chromosomenbestand von *T. austriaca* von dem *T. hortensis*-Bestand unterschieden werden.

In Fig. 14 ist eine weitere Äquatorialplatte reproduziert, ebenfalls einer Spermatocyte II. Ordnung, aber einem andern Tier als Fig. 12 zugehörig. Die Chromosomen dieser Platte sind nur etwa halb so groß wie diejenigen der Fig. 12; die Stadien entsprechen sich genau, die Vergrößerung ist dieselbe. Die Präparate wurden beide mit HEIDENHAINS Eisenhämatoxylin gefärbt; das Material war in beiden Fällen mit FLEMMINGschem Gemisch fixiert worden. Es ist zwar mißlich, bei Anwendung der HEIDENHAINschen Färbung Chromosomen von kugeligen Formen aus verschiedenen Präparaten vergleichen zu wollen. Solche starke Größendifferenz aber kann man der verschieden starken Differenzierung der HEIDENHAINschen Färbung nicht zuschreiben. Es sei auch erwähnt, daß ich in wiederholten Fällen bei starker Differenzierung, die übrigens bei Fig. 14 gar nicht durchgeführt wurde, nicht kleinere, sondern nur blassere Chromosomen fand. Außerdem sei hervorgehoben, daß entsprechende Größenunterschiede auch in den Teilungsfiguren der Spermatocyten I. Ordnung vorhanden sind. Die Chromosomen der I. Reifungsspindeln des Tieres von Fig. 14 sind ebenfalls beträchtlich kleiner wie diejenigen von Fig. 10 und 11.

Ähnliche Größenunterschiede zeigten sich auch bei *T. hortensis*. Der Zwitterdrüse eines Tieres aus Würzburg sind entnommen Fig. 2, 3, 4 und 6, derjenigen eines Tieres aus Wien Fig. 5. Die mittlere Größe der Chromosomen von Fig. 5 (I. Reifeteilung) ist nicht viel bedeutender als diejenige von Fig. 6, einer II. Reifeteilung, während innerhalb des gleichen Tieres die Elemente der I. Reifeteilung ungefähr doppelt so groß sind wie die Elemente der zweiten.

Es ist zu prüfen, ob von solchen Varianten unser Resultat, die Unterscheidungsmöglichkeit zwischen den Chromosomenbeständen *T. austriaca* und *T. hortensis*, beeinflußt werden kann. Wir sehen, daß das große bügelförmige Chromosom in den I. Reifeteilungen von *T. hortensis* vorhanden ist, gleichgültig, wie die durchschnittliche Größe der Chromosomen ist. Wir sehen auch, daß es relativ immer hervorragende Dimensionen hat. Die Unterscheidungsmöglichkeit der beiden Species bleibt also bestehen.

Ein zweites Merkmal, welches die beiden Arten unterscheidet, besitzen wir in der Zahl. Die ruhenden Kerne der Spermatocyten I. Ordnung ent-

halten bei *T. austriaca* 25 Chromosomen. In neun klaren Fällen — darunter Fig. 8 u. 9 [1]) — zählte ich 25, in einem Falle 24 oder 25. Dazu kommen die weniger sicheren Zählungen an andern Stadien: Die Äquatorialplatte der ersten Reifungsspindel enthält fast sicher 25 Elemente. Dabei ist ein kleiner, in der Figur am oberen Rand der Platte gelegener Körper, der wohl nicht als Chromosom zu gelten hat, nicht mitgerechnet. In Fig. 11 *a—c* sind 24 oder 25 Elemente enthalten; eben so viel, 24 oder 25, in Fig. 12; dagegen 25 oder 26 in Fig. 14. In den Spermatogonien freilich konnte ich nicht mit Sicherheit 50 Chromosomen feststellen, was in Anbetracht der großen Zahl und der Ungunst dieses Stadiums nicht verwunderlich sein dürfte.

Nach dem Gesagten können wir die beiden Species *T. hortensis* und *T. austriaca* außer nach der großen *T. hortensis*-Tetrade auch nach der Chromosomenzahl unterscheiden: Die reduzierte Chromosomenzahl von *T. hortensis* ist 22, diejenige von *T. austriaca* aber 25.

III. Die Spermatogenese des „einseitigen Bastards" hortensis × austriaca.

Alle drei im Eingang dieser Arbeit (S. 1) genannten Bastarde, die sämtlich dem gleichen Kreuzungsversuche von Lang angehören, lieferten das nämliche Resultat.

In Fig. 15, 16, 18—22 sind die einzelnen Stadien der Spermatogenese eines dieser Tiere abgebildet.

Fig. 15: Äquatorialplatte der Spindel eines Spermatogoniums in Polansicht. 44 oder 45 Chromosomen, darunter zwei lange Schleifen.

Fig. 16 *a* u. *b*: Ruhender Kern einer Spermatocyte I. Ordnung. Die aus den beiden Schleifen der Spermatogonie hervorgegangene große Tetrade ist deutlich in Fig. 16*a* wahrzunehmen.

Fig. 17: Große Tetraden aus einer Anzahl anderer ruhender Kerne eines andern Tieres.

Fig. 18: Äquatorialplatte einer Spermatocyte in Polansicht. Mit charakteristischer vierschenkliger großer Tetrade. 22 oder 23 Chromosomen.

Fig. 19 *a* u. *b*: Reifungsspindel einer Spermatocyte I. Ordnung. Die Tochterchromosomen hängen noch zusammen. Die große Tetrade von Doppelbügelform ist in Fig. 19*a* klar zu sehen. Höchstens 22 Chromosomen.

Fig. 20: Die von der großen Tetrade gelieferten Tochterchromosomen weichen auseinander. (I. Richtungsteilung.)

---

[1]) Ob der kleine Körper rechts oben in Fig. 9*b* als Chromosom zu zählen hat, muß zweifelhaft bleiben. Er wurde mehrfach beobachtet (vgl. auch Fig. 16*a*).

Fig. 20*a*: Die Tochterchromosomen haben sich noch weiter voneinander entfernt. (Die Sphären — in der Figur weggelassen — wären gleich zu orientieren wie in Fig. 20.) Sie zeigen besonders deutlich an dem einen Ende schon eine Längsspaltung, offenbar in die Tochterelemente der II. Reifeteilung.

Fig. 21: Äquatorialplatte einer Spermatocyte II. Ordnung. Das große Element hat kugelige Form. Es ist nach seiner Größe von den andern unterscheidbar.

Fig. 22: Reifungsteilung II, Metaphase, in Seitenansicht. Das große Element liegt links in der Spindel. (Es sind nicht alle Chromosomen eingezeichnet.)

Aus dieser Figurenreihe geht folgendes hervor. Der Chromosomenbestand des Bastards ist diploid und zeigt die Charaktere von *T. hortensis*: In den Spermatogonien zwei lange Schleifen, in der Spermatocyte I. Ordnung die große, in ihrer Form für *T. hortensis* typische Tetrade. Man vergleiche Fig. 1 mit Fig. 15 (Spermatogonien), Fig. 2 und 3 mit Fig. 16 und 17 (Spermatocyte I. ruhender Kern), Fig. 4 mit Fig. 18 (Spermatocyte I. Äquatorialplatte), Fig. 5 mit Fig. 19 (Spermatocyte I. Spindel in Seitenansicht). Auch in den Spermatocyten II. Ordnung verhält sich das große Chromosom wie bei *T. hortensis*.

Wäre das Chromatin von *T. austriaca* an dem »Bastard«[1]) beteiligt, so könnten in den Spermatogonien nicht zwei lange Schleifen vorkommen, vielmehr dürfte nur eine Schleife gefunden werden (aus dem *T. hortensis*-Eikern). Ebensowenig dürfte, wenn *T. austriaca* das Sperma geliefert hätte, eine typische große Tetrade in den Spermatocyten I. Ordnung vorkommen. Es müßte die Tetrade vielmehr, wenn sie überhaupt gebildet würde, aus ungleichen Hälften bestehen. Was wir auf Grund der Form und Größe für die großen Schleifen feststellen konnten, dürfen wir auch für die übrigen Elemente annehmen, umsomehr, als die Spindeln stets normal gebildet sind und sich die Tetraden, wie die Seitenansichten der Reifungsspindeln zeigen, in äußerlich gleiche Tochterelemente teilen.

Daraus folgt, daß *T. austriaca*-Chromosomen in dem Bastard nicht enthalten sind.

Die Zahlenergebnisse führen uns zu dem gleichen Resultat. In den ruhenden Kernen der Spermatocyten I. Ordnung finden wir 22 Chromosomen[2]). In Fig. 18 sind 22 oder 23, in Fig. 19 höchstens 22, in Fig. 21

[1]) D. h. wäre der »Bastard« wirklich ein Kreuzungsprodukt zwischen *T. hortensis* und *T. austriaca*, also aus einem von *T. austriaca*-Sperma befruchteten *T. hortensis*-Ei hervorgegangen.

[2]) Im einzelnen wurde gezählt: 22, 22, 22, 22 oder 23.

ebenfalls 22 Elemente vorhanden. In der Spermatogonie, wo die Zählungen weniger sicher sind, zählte ich 44 oder 45 Chromosomen. Zusammengefaßt: Der »einseitige Bastard« von *T. hortensis* und *T. austriaca* zeigt in Hinsicht auf Chromosomenform und Chromosomenzahl den gleichen Chromosomenbestand wie eine normale, aus einem befruchteten Ei hervorgegangene *T. hortensis.*

IV. Die Spermatogenese der „parthenogenetisch" entwickelten Tachea hortensis.

Unter diesen parthenogenetischen Individuen verstehe ich die Nachkommen der von Lang (1912) erwähnten isoliert gehaltenen, jungfräulichen *T. hortensis.* Freilich wird sich zeigen, daß die jungfräuliche Mutterschnecke diese Nachkommen wohl eher durch Selbstbefruchtung als auf parthenogenetischem Wege erzeugt hat.

Ich habe drei Tiere untersucht. Zwei (*A* und *B*) waren noch ganz jung. In ihren Zwitterdrüsen fanden sich Spermatogonien, aber — soviel ich sehen konnte — keine Spermatocyten. Das dritte Tier (*C*) war zur Zeit der Tötung erwachsen und enthielt außer Spermatogonien auch Spermatocyten und Spermien.

In den Spermatogonien der Tiere *A* und *B* konnte ich fast immer über 40 Chromosomen feststellen. Die Zahlenwerte schwanken zwischen 40 und 48 mit einem Mittelwert von 44,5. Anspruch auf große Genauigkeit können diese Zahlen nicht machen. Sie genügen jedoch, um den Beweis zu liefern, daß diese Individuen, wie die aus typisch befruchteten Eiern hervorgehenden, den normalen, diploiden Chromosomenbestand besitzen.

Im gleichen Sinne sprechen die Beobachtungen über die beiden bei *T. hortensis* vorkommenden langen Chromosomenschleifen. Sie sind, wie bei normalen *T. hortensis*-Individuen in den Spermatogonien aller drei Tiere stets paarig vorhanden und bilden in den Spermatocyten die große, charakteristische Tetrade.

In Fig. 23 *a* u. *b* ist der ruhende Kern einer Spermatocyte I. Ordnung abgebildet. Fig. 23*b* zeigt die große Tetrade. Die Chromosomenzahl beträgt 22.

Nach den mitgeteilten Beobachtungen ist es sicher, daß die Nachkommen der in Einzelhaft gehaltenen Schnecke den normalen Chromosomenbestand wie die gewöhnlichen befruchteten Tiere besitzen.

Anhangsweise möchte ich hier eine Beobachtung über die Chromosomenverhältnisse bei *Helix nemoralis* anfügen. Eine ganze Anzahl von Tieren, teilweise in Bern, teilweise in Zürich gesammelt, besaßen denselben

Chromosomenbestand wie *T. hortensis*: die ruhenden Kerne enthielten 22 Chromosomen, darunter jene große Tetrade. Nur ein Tier (Bern) bildet davon eine Ausnahme. Seine Spermatocytenkerne besaßen zu meiner Überraschung durchweg 28—29 Chromosomen[1]). Ein solcher Kern ist in Fig. 24 *a* u. *b* abgebildet. Er enthält 28 Elemente. Hervorzuheben ist, daß alle diese Kerne — ich fand in diesem Tier keine mit andern Zahlen — keine große Tetrade besitzen. Dies legt die Vermutung nahe, es möchten die großen Schleifen der typischen *H. nemoralis* und *T. hortensis* aus mehreren Chromosomen bestehen, welche in dem abnormen Fall in ihre Bestandteile zerfallen sein könnten, wodurch die ungewöhnliche Zahl von Elementen zustande gekommen wäre (siehe Nachtrag).

Leider habe ich das Tier bei der Fixierung weder anatomisch untersucht, noch das Häuschen aufbewahrt, nach dessen Merkmalen (schwarze Lippe) ich seinerzeit die Zugehörigkeit zur Species *H. nemoralis* feststellte. Ob es sich wirklich um ein typisches *H. nemoralis*-Individuum handelt, ist mir darnach nicht ganz fraglos. Freilich hat meines Wissens keine der sonst in Frage kommenden einheimischen Schnecken 28 Chromosomen.

V. Besprechung der Resultate.

Die Frage ist: Wie sind die Nachkommen[2]) jener jungfräulichen, in Einzelhaft lebenden *T. hortensis* und wie die aus Kreuzungsversuchen zwischen *T. hortensis* und *T. austriaca* hervorgegangenen als einseitige Bastarde bezeichneten Tiere aufzufassen? Wir können beide Gruppen zusammen besprechen, denn, wie oben dargelegt, sind die »einseitigen Bastarde« in Wirklichkeit keine Bastarde; sie stimmen in ihrem Chromosomenbestand mit den gewöhnlichen *T. hortensis* und mit den »parthenogenetischen« Individuen überein. Ihre Entstehung dürfte darnach die gleiche wie bei den »parthenogenetischen« Tieren sein.

Es kann sich, wie schon von Lang an mehreren Stellen seiner letzten Arbeiten (1911, 1912) auseinandergesetzt wird, bei diesen »parthenogenetischen« Zuchten nur um Parthenogenese oder Selbstbefruchtung — *Helix* ist hermaphrodit — handeln. »Während nun aber«, schreibt Lang (1912, S. 251), »bei *Arion* und *Limax* die Fortpflanzung durch Selbstbefruchtung neben der Fortpflanzung durch Fremdbefruchtung ganz normal einherzugehen scheint, kann es sich bei den Tacheen nach allen meinen Erfahrungen nur um eine sehr seltene Ausnahmeerscheinung handeln. Und zwar ist es doch wohl jetzt wahrscheinlicher, daß Selbstbefruchtung und nicht normale Parthenogenese stattfindet.«

---

[1]) Zählungen: 28, 28, 29, 28, 28 oder 29, 28, 29, 28, 29.

[2]) Der Kürze halber seien sie als »parthenogenetische« Individuen bezeichnet.

Alle drei »parthenogenetischen« Individuen und ebenso die drei einseitigen Bastarde zeigten den normalen, nicht reduzierten Chromosomenbestand von *T. hortensis*. Von dieser Tatsache hat man bei Erwägung der beiden oben genannten Entstehungsmöglichkeiten auszugehen.

Parthenogenetisch werden bei zahlreichen Organismen Nachkommen erzeugt, wobei bei den einen die Chromosomenzahl halbiert wird, bei den andern jedoch diese Zahlenreduktion ausfällt. Am wichtigsten, weil dem Vorkommnis bei *Tachea* am ähnlichsten, sind uns dabei die Fälle, wo Parthenogenese nur ausnahmsweise eintritt[1]). Außerdem ist vor allem zu berücksichtigen, ob die Reifungsteilungen vor oder nach der Befruchtung vollzogen werden. Bei Formen, wo die Reifeteilungen schon erledigt sind, wenn das Ei befruchtet werden kann, müssen parthenogenetisch entwickelte Eier die reduzierte Chromosomenzahl besitzen. Zumal wird dies für Formen gelten, wo Parthenogenese nur als seltene Ausnahme vorkommt. Anders werden sich unter Umständen Formen verhalten können, wo die Reifeteilungen erst nach der Befruchtung einsetzen. Hier ist, wie von mehreren Autoren schon erörtert wurde, eine mehr oder minder starke Abhängigkeit des Verlaufs der Reifung vom Eintritt der Befruchtung denkbar. So wird in manchen Fällen die zweite Reifeteilung modifiziert, wenn die Befruchtung ausbleibt. Ich erinnere an *Pterotrachea* (Boveri 1890), *Asterias* (Hertwig 1890, Buchner 1911), *Mactra* (Kostanecki 1902, 1904, 1911). Diese Fälle stimmen — mit Ausnahme einzelner Eier von *Mactra*, welche zwei Richtungskörper bilden — darin überein, daß ein II. Richtungskörper zwar nicht abgeschnürt wird, wohl aber sich die II. Richtungsspindel ausbildet und eine Verdoppelung der Chromosomenzahl zustande kommt. Die Eier würden, wenn sie sich normal weiter entwickelten, normale Chromosomenzahl besitzen. Eine solche Weiterentwicklung scheint jedoch nur selten möglich zu sein. In den zitierten Fällen[2])

---

[1]) Eier mit obligatorischer Parthenogenese (Schleip 1910) kommen für unsern Fall kaum in Betracht. Wir haben dort feststehende Einrichtungen, welche die Wahrung des diploiden Chromosomenbestandes ermöglichen, und die wir für unsere Ausnahmefälle bei *Tachea* kaum voraussetzen, wenn auch nicht mit positiver Sicherheit ausschließen können. Bei den Eiern mit natürlicher fakultativer Parthenogenese (Honigbiene, Wespe, Ameisen) aber findet nach Schleip »eine Zahlenreduktion statt, genau so, wie wenn sie befruchtet werden sollten« (l. c. S. 210). Damit stimmt also der Fall bei *Tachea* nicht überein.

[2]) Der Angabe von Greeff (1876), wonach die parthenogenetischen Eier von *Asterias* normale Blastulae lieferten, stehen die Erfahrungen von Buchner (1911) und schon diejenigen von O. Hertwig (1890) gegenüber, nach dessen Mitteilung die Furchungen »sehr unregelmäßige und pathologische« waren (1890, S. 310). Greef hat den Verlauf der Reifung nicht untersucht.

ist sie unterblieben. Dagegen berichtet LEFEVRE (1907), daß *Thalassema*-Eier durch Säuren zu parthenogenetischer Entwicklung angeregt, normale Larven lieferten, gleichgültig, ob beide, oder nur einer, oder gar kein Richtungskörper gebildet wurde. In der Regel allerdings werden zwei typische Richtungskörper abgestoßen und gerade in diesem Fall ist normale Entwicklung am häufigsten. Es scheint hier also die Entwicklung am leichtesten und regelmäßigsten zu gehen, wenn zwei typische Richtungskörper gebildet wurden[1]). Im gleichen Sinne sprechen Beobachtungen von TENNENT und HOGUE (1906) bei *Asterias forbesii* und von ZARNIK (1911) bei Pteropoden. Dieser letztgenannte Fall sei deshalb noch besonders hervorgehoben, weil hier die Parthenogenese nicht künstlich herbeigeführt wurde. Beide Reifeteilungen laufen in der typischen Weise ab. Die Furchungsspindel enthält die halbe Zahl von Chromosomen.

Aus allen diesen Angaben läßt sich folgendes Resultat ziehen: Findet bei *T. hortensis* die Befruchtung der Eier erst statt, wenn beide Reifeteilungen durchgeführt sind, so können die hier in Frage stehenden *T. hortensis*-Individuen sich nicht auf parthenogenetischem Wege entwickelt haben, da sie die normale Zahl von Chromosomen besitzen. Es bliebe damit als letzte Möglichkeit die Selbstbefruchtung bei der Mutter der genannten Tiere. Findet aber die Befruchtung bei *Tachea* vor der Reifung statt, so wäre Parthenogenese unter Ausbleiben des zweiten Richtungskörpers denkbar und es wäre nicht vollkommen auszuschließen, wenn auch sehr wenig wahrscheinlich, daß sich aus solchen Eiern normale Tiere mit normaler Chromosomenzahl entwickeln.

Die Angaben der Literatur über die zeitliche Aufeinanderfolge von Reifung und Befruchtung bei *Tachea* stimmen leider nicht überein. BURRESCH berichtet von *Helix arbustorum* (1912): »Die Eier machen ihre Reifeteilung noch im Zwittergang oder im Anfang des Uterus durch« (l. c. S. 336). Zwittergang und Uterus bleiben während dieser Zeit von Spermien frei. Die Spermien, welche aus dem Receptaculum in den Uterus hinaufsteigen, begegnen auf ihrem Wege, im oberen Teile des Uterus »den reifen[2]) Eiern und befruchten sie« (S. 339).

Dagegen stehen MEISENHEIMERS (1907) Angaben und Abbildungen von *H. pomatia*. Nach ihnen geht die Befruchtung der Eireifung voran oder fällt zum mindesten in die Reifungsperiode. Die Eier treten durch

---

[1]) Diese Individuen haben haploide Chromosomenzahl, im Gegensatz zu *Helix*. Durch Einschaltung eines Monasterstadiums vor der ersten Furchungsteilung könnte allerdings die Chromosomenzahl zur normalen werden. Doch führt dies zumeist, wenn keine experimentelle Kautelen ausgeführt werden, zu unregelmäßiger Entwicklung.

[2]) Von mir gesperrt.

den Zwittergang in die Befruchtungstasche, d. h. den obersten Teil des Uterus, »zumeist noch im Innern mit wohlerhaltenem Keimbläschen und großem Nucleolus versehen«. Daß dabei allerdings Varianten vorkommen, zeigt MEISENHEIMERS Fig. 23 (Taf. XVIII), wo in einem der »auf ihrem Wege durch den Zwittergang« fixierten Eier eine Strahlung zu sehen ist, welche nur einer Richtungsspindel angehören kann. In diesem Falle hat die Reifung vor der Befruchtung eingesetzt. In der Befruchtungstasche wird das Ei befruchtet. »Allmählich beginnt dann das Keimbläschen sich aufzulösen, es treten die Polstrahlungen auf und schließlich erfolgt die Umbildung zu der im Centrum des Eies gelegenen I. Richtungsspindel« (l. c. S. 495). Wenn die Angaben von BURRESCH für *T. hortensis* gelten, so wäre unsere Frage entgegen der auf anderen Gründen ruhenden Anschauung dieses Autors selbst mit Sicherheit zugunsten der Selbstbefruchtung entschieden. Auf Grund der Beobachtungen von MEISENHEIMER, die gegenüber denjenigen von BURRESCH besser durch Abbildungen begründet sind, läßt sich jedoch die Frage nicht ganz sicher entscheiden.

Es ist darnach nicht ganz undenkbar, daß die Eier, als die Befruchtung während der Eireifung ausblieb, sich parthenogenetisch entwickelten, ohne Abschnürung des II. Richtungskörpers, aber unter Entwicklung der II. Richtungsspindel, wodurch die Chromosomenzahl zur normalen wurde. Unwahrscheinlich aber ist allerdings nach den aus der Literatur zitierten Fällen, daß gerade diese Eier sich normal weiterentwickelten. Bei Annahme von Parthenogenese wäre vielmehr zu erwarten, daß normal sich entwickelnde Tiere gerade den halben (haploiden) Chromosomenbestand zeigen sollten und, wären pathologische Tiere vorhanden, diese einen der diploiden Zahl angenäherten Chromosomenbestand besäßen. Tiere mit halber Chromosomenzahl wären um so mehr auch zu erwarten, als es sich um eine ganze Reihe von Zuchten handelt, außer der parthenogenetischen um die Zuchten einseitiger Bastarde, für welche dieselbe Erklärung gelten muß. Freilich wurden nicht Individuen aller dieser Zuchten cytologisch untersucht. Doch darf man angesichts des gleichförmigen Resultats in den sechs untersuchten Individuen wohl annehmen, daß auch die übrigen Tiere den normalen Chromosomenbestand besitzen.

Außer diesen Argumenten, welche alle zugunsten der Selbstbefruchtung und gegen Parthenogenese sprechen, ist noch ein weiteres Moment zu besprechen, welches schon LANG (1911, S. 137; 1912, S. 251) erörtert hat. Er erwähnt als gelegentliches Vorkommnis, »daß bei den einseitigen Hybriden Spaltung[1]) eintritt« und fährt fort: »Wenn, wie man ziemlich

[1]) Von mendelnden Merkmalen.

allgemein annimmt, bei der normalen Parthenogenesis die Reduktionsteilung unterbleibt, so dürften ja keine Spaltungserscheinungen vorkommen« (1912, S. 251). Dieser Satz hat allerdings nur unter bestimmten Voraussetzungen seine Richtigkeit. Zuerst muß entschieden werden, ob die erste oder zweite Reifeteilung als Reduktionsteilung anzusehen ist. Bei Parthenogenese könnte nach der oben gegebenen Darstellung nur die Abschnürung des II., nicht aber des I. Richtungskörpers wegfallen, es wären, wenn die erste Reifungsteilung die Reduktionsteilung ist, Spaltungserscheinungen möglich. Damit wird diese Argumentation auf ein sehr schwieriges Gebiet versetzt, denn es kann weder als sicher gelten, welche der beiden Teilungen bei *Helix* die Reduktionsteilung ist, noch steht fest, ob nicht beide Teilungen bei Spaltung der Mendelschen Merkmale beteiligt sind[1]).

»Wenn man sich entscheiden soll«, sagt Kleinert, »welche der beiden Teilungen die Reduktionsteilung ist, so halte ich es für das wahrscheinlichste, daß die zweite Teilung diese Aufgabe erfüllt« (1909, S. 488). Die tatsächliche Unterlage für diese Auffassung liefern die Beobachtungen vor allem an der großen Tetrade. Gerade in dieser Hinsicht weichen jedoch meine Figuren von denjenigen Kleinerts ab. In Fig. 11 ist das typische Aussehen der großen Tetrade in der Äquatorialplatte der I. Reifeteilung gegeben. Das Auseinanderweichen ist in Fig. 20 und 20*a* abgebildet. Jedes der beiden Tochterchromosomen in Fig. 20 ist von gleicher Dicke wie die Schenkel der Tetrade, jedes auch ungefähr so lang wie zwei Arme der Tetrade zusammengenommen. Darnach wird es sich in dieser Teilung nicht um eine gewöhnliche Längsspaltung handeln; vielmehr weichen hier die beiden Elemente auseinander, deren Konjugation die Tetrade geliefert hat. Dies besagt, daß die I. Teilung als Reduktionsteilung aufzufassen ist, unter der Voraussetzung allerdings, daß sich die übrigen Chromosomen gleich verhalten, was bei ihren kugeligen Formen schwer feststellbar ist.

Beim weiteren Auseinanderweichen der in Fig. 20 dargelegten Elemente biegen sich die Schleifen mit ihren Enden zu einem spitzen, nach dem Äquator der Spindel hin offenen Winkel um (Fig. 20*a*). Zugleich tritt, besser wahrnehmbar, in dem einen längeren Schenkel, Längsspaltung ein, was kaum anders zu deuten ist, als daß hier schon die Tochterelemente der zweiten Reifeteilung erkennbar werden. Die kürzeren, in Fig. 20*a* dunkel gezeichneten Schenkel sind leicht zu übersehen, wie es wohl bei Kleinert in den Fig. 30 und 31 geschehen, den Figuren, welche ihm für den Äquationscharakter der I. Teilung sprechen.

---

[1]) Goldschmidt gibt 1912 (S. 380ff.) eine dahin zielende Auffassung.

Die Angaben der großen Reihe anderer Autoren beziehen sich auf *Helix pomatia*, die nur kugelige Chromosomen besitzt und darum für die Entscheidung der erörterten Frage nicht günstig ist. Ich kann es mir aus diesem Grunde, und da ich über *H. pomatia* keine eigenen Beobachtungen gemacht habe, versagen, auf die große Literatur über *H. pomatia* einzugehen und begnüge mich damit, festzustellen, daß auch hier keine Einigkeit herrscht. Nach unseren Beobachtungen kommen wir gegenüber der Frage, ob Parthenogenese eine Spaltung mendelnder Merkmale ausschließt, für unsern Fall zu einem negativen Resultat. Wenn die MENDELsche Spaltung nur mit der Reduktionsteilung in Beziehung steht, und wenn die I. Reifeteilung die Reduktionsteilung ist, so ist eine Spaltung möglich bei Individuen, die auf parthenogenetischem Wege aus Eiern hervorgingen, welche keinen II. Richtungskörper bildeten. Und dies wären die Verhältnisse bei *Tachea*. Die Tatsache MENDELscher Spaltung ist somit bei *Tachea* nicht gegen die Annahme der Parthenogenese zu verwerten.

Zusammenfassung.

1. Aus den in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Tatsachen geht mit Sicherheit hervor, daß es sich bei den »einseitigen Hybriden« *Helix hortensis* und *H. austriaca* nicht um Hybride, sondern nur um durch Parthenogenese oder mittelst Selbstbefruchtung des Muttertieres entstandene Nachkommen handeln kann.

2. Die cytologische Untersuchung von Nachkommen einer jungfräulichen in Einzelhaft gehaltenen *H. hortensis* hat ergeben, daß diese Nachkommen die normale diploide Chromosomenzahl besitzen.

3. Die Tatsache, daß in beiden Fällen — bei den Hybriden wie auch bei den sub 2 genannten Tieren — die normale Chromosomenzahl vorhanden ist, macht in Verbindung mit Verhältnissen der Eireifung und Befruchtung die Parthenogenese sehr unwahrscheinlich, wenn auch nicht unmöglich. Es folgt daraus — wenn auch nicht mit voller Sicherheit — daß sowohl die einseitigen Hybriden als auch die Nachkommen jener jungfräulichen Schnecke durch Selbstbefruchtung der Mutter zustande gekommen sind, daß also bei *H. hortensis* Selbstbefruchtung möglich ist.

---

4. Die Chromosomenzahl der Spermatocyten von *Tachea hortensis* ist 22 (oder 22 und 23), von *Tachea austriaca* 25.

5. Die erste Reifungsteilung ist bei *Tachea hortensis* die Reduktionsteilung, die zweite die Äquationsteilung.

Nachtrag.

Die Vermutung, die großen Schleifen in *T. nemoralis* und *T. hortensis* möchten aus mehreren Einzelchromosomen bestehen, hat nachträglich eine gute Stütze erhalten. In einem der durch Selbstbefruchtung des elterlichen Tieres entstandenen Individuen fanden sich neben Spermatocyten mit typischen Kernen auch solche mit Kernen ohne große Tetrade. Ein solcher Fall ist in Textfig. A abgebildet. Der

Textfig. A.



Kern einer Spermatocyte I. Ordnung aus *T. hortensis.* (Die Chromosomen sind der Übersicht halber in zwei Teilbildern gezeichnet.)

Kern besitzt 24—26 Chromosomen. Den Übergang von Fällen wie Fig. A zu den typischen Verhältnissan geben Kerne, wo zwar eine große Tetrade vorhanden ist, deren Zusammensetzung aus einzelnen Elementen sich jedoch noch erkennen läßt. Wir sind nach diesen Beobachtungen wohl berechtigt, auch jenen Fall von *T. nemoralis* mit 28 Chromosomen in dieser Weise — Zerfall der großen Tetrade in ihre Komponenten — zu deuten.

Literatur.

Boveri, Th. 1890. Zellenstudien III.

Buchner, P. 1911. Die Reifung des Seesterneies bei experimenteller Parthenogenese. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI.

Burresch, Iw. 1912. Untersuchungen über die Zwitterdrüse der Pulmonaten. I. Arch. f. Zellforsch. Bd. VII.

Goldschmidt, R. 1912. Einführung in die Vererbungswissenschaft.

Greef, R. 1876. Über den Bau und die Entwicklung der Echinodermen. Sitzber. Ges. Nat. wiss. Marburg. 1876. Nr. 5.

Hertwig, O. 1890. Experimentelle Studien am tierischen Ei, vor, während und nach der Befruchtung. Jen. Zeitschr. Bd. XVII.

Kleinert, M. 1909. Die Spermatogenese von Helix (Tachea) nemoralis und hortensis. Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. XLV.

Kostanecki, K. 1902. Über künstliche Befruchtung und künstliche parthenogenetische Furchung bei Mactra. Bull. Ac. Sc. Cracovie. 1904. Cytologische Studien an künstlich parthenogenetisch sich entwickelnden Eiern von Mactra. Arch. f. mikr. Anat. u. Entw.-Gesch. Bd. LXIV.

—— 1911. Über die parthenogenetische Entwicklung der Eier von Mactra mit vorausgegangener oder unterbliebener Ausstoßung der Richtungskörper. Arch. f. mikr. Anat. Abt. II. Bd. LXXVIII.

Lang, A. 1911. Fortgesetzte Vererbungsstudien. Zeitschr. f. ind. Abst. u. Vererb.-Lehre. Bd. V.

—— 1912. Vererbungswissenschaftliche Miszellen. Ebd. Bd. VIII.

Lefevre, G. 1907. Artificial parthenogenesis in Thalassema mellita. Journ. exp. Zool. Vol. IV.

Meisenheimer, J. 1907. Biologie, Morphologie und Physiologie des Begattungsvorganges und der Eiablage von Helix pomatia. Zool. Jahrb., Syst. Bd. XXV.

Schleip, W. 1910. Die Reifung des Eies von Rhodites rosae L. und einige allgemeine Bemerkungen über die Chromosomen bei parthenogenetischer Fortpflanzung. Zool. Anz. Bd. XXXV.

Tennent, D. H. und Hogue, M. J. 1906. Studies on the development of the starfish egg. Journ. exp. Zool. Vol. III.

Zarnik, B. 1911. Über den Chromosomencyclus bei Pteropoden. Verh. d. d. zool. Gesellschaft.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel VI.

Alle Bilder beziehen sich auf Material, das in Flemmingschem Gemisch fixiert und auf Schnitten in Heidenhains Eisenhämatoxylin gefärbt worden war. Vergrößerung 2250. (C.-Oc. 12, Ap. 2,0. Tubus eingestoßen.)

Fig. 1—6. Stadien aus der Spermatogenese von *Tachea hortensis.*

Fig. 1. Äquatorialplatte der Spindel eines Spermatogoniums in Totalansicht. 44 Chromosomen.

Fig. 2. Ruhender Kern einer Spermatocyte mit 22 Tetraden. Die Dicke des Schnittes beträgt 14 μ. Der Kern ist nicht angeschnitten.

Fig. 3 *a—d.* Verschiedene Formen der großen Tetrade, aus ruhenden Kernen wie Fig. 2.

Fig. 4. Äquatorialplatte einer I. Reifungsspindel; Polansicht. 22 oder 23 Chromosomen.

Fig. 5 *a* u. *b.* I. Reifungsspindel von der Seite. Die Spindel verteilt sich auf zwei Schnitte (*a* u. *b*). Etwa 21 Chromosomen.

Fig. 6 *a* u. *b.* II. Reifungsspindel, Metaphase. In Fig. 6 *b* ist ein Chromosoma vom Messer verschleppt.

Fig. 7—14. Stadien aus der Spermatogenese von *Tachea austriaca.*

Fig. 7. Äquatorialplatte der Spindel eines Spermatogoniums in Polansicht. Die gesonderte Lage des Elementes an der linken Seite der Platte rührt von Verschleppen durch das Messer her.

Fig. 8 *a* u. *b*. Ruhender Kern einer Spermatocyte I. mit 25 Tetraden. Der ganze Kern liegt in einem Schnitt (14 μ). Er wurde lediglich der Übersicht der Chromosomen wegen in zwei Teilbildern gezeichnet.

Fig. 9 *a* u. *b*. Wie Fig. 8.

Fig. 10. Äquatorialplatte einer I. Reifungsspindel. Polansicht. 25 Chromosomen.

Fig. 11 *a*—*c*. I. Reifungsspindel von der Seite. Die Spindel verteilt sich auf zwei Schnitte Fig. 11 *a* u. *b*; Fig. 11 *c*.

Fig. 12. Äquatorialplatte einer II. Reifungsspindel. Polansicht. 24—25 Chromosomen.

Fig. 13 *a*—*c*. II. Reifungsspindel in Seitenansicht. Fig. *a* u. *b* sind Teilbilder des gleichen Schnittes, *c* der darauffolgende Schnitt.

Fig. 14. Wie Fig. 12. Von einem andern Tier. 25—26 Chromosomen.

Fig. 15—22. Stadien der Spermatogenese des »einseitigen Bastards« *Helix hortensis* × *austrica*.

Fig. 15. Äquatorialplatte der Spindel eines Spermatogoniums. Polansicht. Etwa 45 Chromosomen.

Fig. 16 *a* u. *b*. Ruhender Kern einer Spermatocyte I. mit etwa 22 Tetraden. Die Tetradenzahl ist, da der Kern zerschnitten ist, nicht genau feststellbar.

Fig. 17 *a*—*c*. Verschiedene Formen der großen Tetrade, aus ruhenden Kernen ähnlich Fig. 16.

Fig. 18. Äquatorialplatte einer I. Reifungsspindel. Polansicht. 22 oder 23 Chromosomen.

Fig. 19 *a* u. *b*. I. Reifungsspindel von der Seite gesehen. Die Spindel verteilt sich auf zwei Schnitte. 20—22 Chromosomen.

Fig. 20. I. Reifungsspindel. Die aus der großen Tetrade hervorgehenden Tochterchromosomen weichen auseinander.

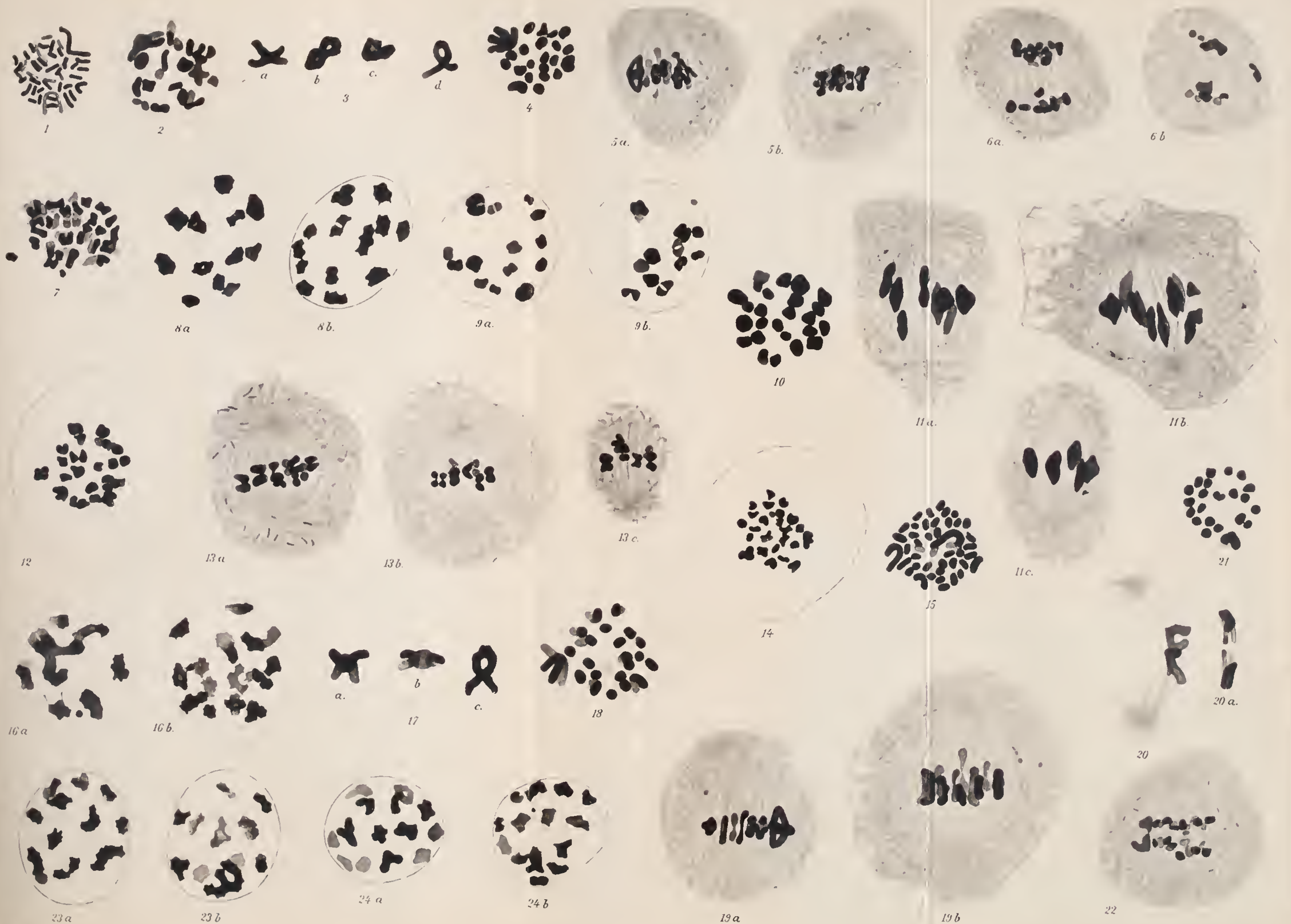
Fig. 20 *a*. Wie vorige Figur, etwas späteres Stadium.

Fig. 21. Äquatorialplatte einer II. Reifungsspindel. Polansicht. 22 Chromosomen.

Fig. 22. II. Reifungsspindel in Seitenansicht; (nicht alle Chromosomen eingezeichnet).

Fig. 23 *a* u. *b*. Ruhender Kern einer Spermatocyte I. eines »parthenogenetischen« *Hortensis*-Individuums. 22 Chromosomen. Die große Tetrade liegt in Fig. 23 *b*. Der Kern liegt in einem Schnitt. Der Übersicht wegen wurden zwei Teilbilder gezeichnet.

Fig. 24 *a* u. *b*. Ruhender Kern aus der Spermatocyte I. einer *Tachea nemoralis*. 28 Chromosomen. Der Kern liegt in einem Schnitt.


1
2
a
b
c.
d
3
4
5 a.
5 b.
6 a.
6 b
7
8 a
8 b.
9 a.
9 b.
10
11 a.
11 b.
12
13 a
13 b.
13 c.
14
15
11 c.
21
16 a
16 b.
a.
b
c.
17
18
20 a.
20
23 a
23 b
24 a
24 b
19 a
19 b
22

Cytologische Studien über die Geschlechtsbestimmung bei der Honigbiene (Apis mellifica L.).

Von

Hans Nachtsheim.

(Aus dem Zoologischen Institut in München.)

Mit 6 Textfiguren, Tafel VII—X und einer Tabelle.

Inhalt.

Einleitung.

Geschichtlicher Überblick.

In den Diskussionen über das in den letzten Jahren so sehr in den Vordergrund des Interesses getretene Problem der Geschlechtsbestimmung haben die Fortpflanzungsverhältnisse der Honigbiene immer eine besondere Rolle gespielt. Nach der Dzierzonschen Theorie entwickeln sich alle unbefruchteten Eier zu männlichen Tieren, zu Drohnen, während die Königinnen und Arbeiterinnen aus befruchteten Eiern ihren Ursprung nehmen. Die Dzierzonsche Theorie schien keinen Zweifel über den Zeitpunkt der Geschlechtsbestimmung bei der Honigbiene zu lassen; es gibt, hieß es, nur eine Sorte von Eiern, und von dem Ausbleiben oder Stattfinden der Befruchtung hängt es ab, ob sich dieses oder jenes Geschlecht aus dem Ei entwickeln wird. Die Honigbiene war gewissermaßen das Schulbeispiel syngamer Geschlechtsbestimmung. Aber wie groß auch die Zahl der Beobachtungen war, welche für die Richtigkeit der Dzierzonschen Theorie sprachen, es hat ihr zu keiner Zeit an Gegnern, sowohl unter den Forschern als auch unter den Bienenzüchtern, gefehlt, ja häufig genug schien es, als ob tatsächlich ein Beweis für die Unrichtigkeit der Theorie erbracht sei. Schon allein diese Tatsache zeigt zur Genüge, daß die Verhältnisse durchaus nicht so einfach liegen, wie gerade die ersten Verfechter der Dzierzonschen Theorie vielfach anzunehmen geneigt waren. Allerdings muß man auf der andern Seite auch wieder hervorheben, daß die Beobachtungen und Angaben von Männern wie Dzierzon, von Berlepsch, von Siebold und Leuckart, was ihre Exaktheit und ihren wissenschaftlichen Wert anbetrifft, hoch über denen zahlreicher Gegner stehen. Diese ließen nur zu häufig ihrer Phantasie sehr die Zügel schießen, und zwar nicht nur Bienenzüchter, denen meist die nötige Vorbildung fehlt, um wirklich einwandfreie Experimente und exakte Beobachtungen machen zu können, sondern selbst Gelehrte, die ohne eine genaue Kenntnis der Biologie der Honigbiene, speziell der Zustände im Bienenstock, ein Urteil abgeben zu können glaubten. Die Zahl der Schriften, welche sich mit der Dzierzonschen Theorie beschäftigen, ist außerordentlich groß, und wenn ich versuche, im folgenden einen Überblick über den Kampf um diese Theorie zu geben, so kann ich nicht die vielen Für und Wider in dem langen Streit bis in alle Einzelheiten darstellen, vielmehr möge hier eine Hervorhebung der wesentlichsten Punkte genügen.

Die Dzierzonsche Theorie stammt bekanntlich von dem Pfarrer Dzierzon, einem schlesischen Bienenzüchter. Dzierzon veröffentlichte

seine Ansichten über die Entstehung der Drohnen im Jahre 1845 in der Eichstädter Bienenzeitung. Die Tatsachen, welche zur Aufstellung der Theorie führten, sind zu bekannt, als daß es nötig wäre, sie hier eingehend zu erörtern; ich erinnere nur daran, daß für DZIERZON in erster Linie die verschiedenen Formen der Drohnenbrütigkeit[1]) ausschlaggebend waren. Weiteren Kreisen blieb indessen die Theorie zunächst unbekannt, und nur unter den Imkern wurde sie heftig diskutiert. Unter diesen herrschten damals die verschiedensten und sonderbarsten Ansichten über die Entstehung der verschiedenen Wesen im Bienenstaat. Die neue Theorie schien den meisten aber doch die sonderbarste von allen zu sein, und viele glaubten ihr eine nur kurze Lebensdauer voraussagen zu können. Sollte doch nach der neuen Theorie die Bienenkönigin befähigt sein, ganz nach Belieben bald ein befruchtetes, bald ein unbefruchtetes Ei abzusetzen! Aber DZIERZON, der ein ausgezeichneter Beobachter war, ließ sich durch die vielen Stimmen, die gegen ihn laut wurden, nicht beirren; er wußte die Einwände zurückzuweisen und zugleich neue Tatsachen als Stütze seiner Theorie beizubringen. Wenn man heute die ersten Jahrgänge der Eichstädter Bienenzeitung, in der sich der Kampf zunächst ausschließlich abspielte, durchblättert, so wundert man sich in der Tat, wie klar und richtig DZIERZON die Fortpflanzungsverhältnisse der Honigbiene erkannt hatte, und wie sehr ganz im Gegensatz dazu die meisten seiner Gegner im Dunkeln tappten.

Erst mehrere Jahre nach Veröffentlichung der DZIERZONschen Theorie wurde auch die Wissenschaft auf sie aufmerksam. Im Jahre 1851 setzte sich VON SIEBOLD, wenige Jahre vorher noch einer der entschiedensten Gegner der Lehre von der Parthenogenese, mit DZIERZON in Verbindung und erkannte alsbald die Bedeutung der Ansichten dieses Mannes. Er führte in den folgenden Jahren zahlreiche Untersuchungen aus, die alle zu gunsten DZIERZONS sprachen, Untersuchungen, die er 1856 in seiner klassischen Arbeit »Wahre Parthenogenesis bei Schmetterlingen und Bienen« im Zusammenhang ausführlich darstellte[2]). Diese

---

[1]) Tritt eine Königin, ohne begattet worden zu sein, in die Eiablage, so nennen wir sie »primär drohnenbrütig«. »Sekundäre Drohnenbrütigkeit« tritt häufig bei älteren Königinnen auf und ist darauf zurückzuführen, daß der Samenvorrat im Receptaculum sich seinem Ende zuneigt oder die Spermapumpe nicht mehr richtig funktioniert. Eine dritte Form ist die »Drohnenbrütigkeit der begattungsunfähigen Arbeiterinnen«, die zumeist in weisellosen Stöcken beobachtet wird.

[2]) Es soll nicht verschwiegen werden, daß nicht alle Resultate SIEBOLDS heute noch beweiskräftig sind. Wenn SIEBOLD angibt, er habe in einem ungefähr 23 Stunden alten Ei, das sich zudem noch 22 Stunden außerhalb des Bienenstockes befunden hatte, einen Samenfaden beobachtet, der noch »sehr lebhafte schlängelnde Bewegun-

Schrift SIEBOLDS, die ihn zum wissenschaftlichen Begründer der Lehre von der Parthenogenese machte, gibt zugleich auch eine eingehende Darstellung der Entstehung der DZIERZONschen Theorie und bildet ein würdiges Denkmal für DZIERZON.

Schon ehe SIEBOLD sich zu den Ansichten DZIERZONS bekannte, hatte dieser auch auf Seiten der Bienenzüchter in VON BERLEPSCH (1851 u. folg.) einen eifrigen Anhänger gefunden, der in der Folgezeit nicht nur durch zahlreiche Experimente und Untersuchungen die Richtigkeit der Lehre DZIERZONS immer aufs neue bestätigte, sondern zugleich mit Erfolg bemüht war, sie unter den Bienenzüchtern zu verbreiten. Und auch unter den Gelehrten blieb SIEBOLD nicht der einzige Anhänger DZIERZONS, sondern in gleicher Weise bemühte sich LEUCKART (1855, 1857, 1858) um die Erforschung der Fortpflanzungsverhältnisse im Bienenstaat; seine Untersuchungen bildeten wertvolle Ergänzungen der Beobachtungen SIEBOLDS und sprachen ebenfalls alle zugunsten DZIERZONS.

So schien gegen Ende der fünfziger Jahre die DZIERZONsche Theorie auf Grund einer großen Zahl von Beobachtungen fest begründet zu sein. Zwar meldeten sich immer wieder Gegner, aber ihre Einwände gegen die Theorie waren doch derart, daß DZIERZON und seine Anhänger leicht zeigen konnten, wie nichtig sie waren. Nicht so leicht wurde es ihnen hingegen, einem Einwand zu begegnen, zu dem Bastardierungsexperimente den Anlaß gaben, und der ihnen zu wiederholten Malen gemacht wurde, ja den man selbst heute noch gelegentlich hört. Ist die DZIERZONsche Theorie richtig, so können, wenn eine deutsche Bienenkönigin von einer italienischen Drohne begattet wird — die deutsche und die italienische Rasse unterscheiden sich vornehmlich durch die Färbung des Hinterleibes; bei der letzteren sind die beiden ersten Hinterleibsringe rotgelb oder rotbraun gefärbt —, die Drohnen, welche diese Königin erzeugt, keine Eigenschaften der italienischen Drohne zeigen, da ja die Eier, aus denen sie sich entwickeln, nicht mit den Spermatozoen der italienischen Drohne in Berührung kommen, während die Töchter dieser Königin, also Arbeiterinnen und Königinnen, Bastarde sein müssen. Man hat sich denn auch dieses Mittels wiederholt bedient, um die Richtigkeit der DZIERZONschen Theorie zu prüfen. Während aber die einen ihre Ex-

---

gen« machte, so können wir bei unsern heutigen Kenntnissen mit Sicherheit behaupten, daß er sich getäuscht hat. In einem 22 Stunden alten Ei ist bereits das Blastoderm ausgebildet, von »schlängelnden Bewegungen« der Spermatozoen innerhalb des Eies kann also keine Rede mehr sein; nur in eben abgelegten, keinesfalls aber mehr als 3 Stunden alten Eiern, könnte man bewegungsfähige Spermatozoen finden.

perimente zugunsten Dzierzons anführten, kamen andre zu gerade entgegengesetzten Resultaten. Unter den letzteren sind besonders Lowe (1867) und vor allem Perez (1878, 1879) zu nennen, die die Dzierzonsche Theorie entschieden ablehnten. Perez z. B. untersuchte 300 Drohnen, die von einer italienischen Königin stammten, welche von einer französischen Drohne begattet worden war. Von diesen 300 Drohnen sollen 151 reine Italiener, 83 reine Franzosen und 66 Übergangsformen von der einen zu der andern Rasse gewesen sein. Die Experimente Perez' sind von zahlreichen Seiten kritisiert worden, und man hat seine Resultate auf die verschiedenste Weise zu erklären versucht (Sanson 1878, Girard 1878, Cook 1879, Phillips 1903 u. a.). Ich will hier nicht näher auf die vielen Einwände, die man Perez gemacht hat, eingehen, beschränke mich vielmehr auf ein allgemeines Urteil über die bisherigen Bastardierungsexperimente mit Bienen. Das in den letzten Jahren so eifrig betriebene Studium der Vererbungsgesetze hat uns zwar bereits zu manchen sehr wichtigen und sicheren Resultaten geführt, aber es hat uns zugleich doch auch zur Genüge gezeigt, wie vorsichtig man sein muß bei der Bewertung von Vererbungsexperimenten. Soll ein Vererbungsexperiment für uns heute auch nur einigermaßen beweisend sein, so verlangen wir in erster Linie, daß wenigstens die jüngsten Vorfahren der zu den Experimenten benutzten Tiere bekannt sind, mit andern Worten: wir müssen wissen, was bereits in den Tieren steckt. Diese Forderung ist aber bei den bisher vorliegenden Bienenexperimenten nicht zur Zufriedenheit erfüllt; so z. B. ist auf die Variationsbreite einer bestimmten Eigenschaft bei den verschiedenen Rassen überhaupt nicht geachtet worden. Da zudem speziell bei der Honigbiene die Fehlerquellen außerordentlich zahlreich und teilweise gar nicht zu beseitigen sind — es sei nur erwähnt, daß die Begattung der Königin hoch in der Luft stattfindet, eine exakte Feststellung also, wer der Vater des weiblichen Teiles ihrer Nachkommen ist, nicht möglich ist —, so scheint es mir fast unmöglich, durch Bastardierungsexperimente die Richtigkeit der Dzierzonschen Theorie wirklich einwandfrei zu beweisen.

In jüngster Zeit hat sich übrigens wieder ein französischer Forscher mit dieser Frage beschäftigt. Cuénot (1909) beobachtete die Nachkommenschaft einer schwarzen Königin, die von einer gelben Drohne begattet worden war. Da die Königin aus einem Stock stammte, dessen Angehörige alle dieselbe Färbung zeigten und nie mit andern Rassen gekreuzt waren, hält Cuénot sie für homozygot. Kurze Zeit nach der Befruchtung der jungen Königin erschienen junge Arbeiterinnen, die gelbe Streifen auf dem Abdomen hatten, welche zwar nicht so kräftig

ausgebildet waren, wie bei der zur Kreuzung benutzten Drohne, indessen keinen Zweifel ließen, daß die Arbeiterinnen Hybriden waren. Die 300 von dieser Königin stammenden Drohnen waren fast alle schwarz wie die Mutter; nur zwei wiesen ein breites gelbes Band auf dem ersten Hinterleibsring auf. Cuénot äußert verschiedene Vermutungen, wie das Auftreten dieser beiden Drohnen zu erklären ist. Für die wahrscheinlichste Hypothese hält er die, daß es Varianten sind. Die Angaben Cuénots schließen jedoch auch nicht aus, daß die beiden Drohnen von einer eierlegenden Arbeiterin, also einem Hybriden, stammten. Auch ich selbst beobachtete die Nachkommen einer von einer italienischen Drohne begatteten deutschen Königin. Die Arbeiterinnen erwiesen sich auch hier ohne weiteres als Hybriden, während alle Drohnen, die ich untersuchte, deutsche Drohnen waren. Wenn ich auch diesen mehr gelegentlichen Beobachtungen keinen größeren Wert beimesse, so ist doch nicht zu bestreiten, daß sie zugunsten Dzierzons sprechen und auch Cuénot erklärt am Schlusse seiner Ausführungen, die Dzierzonsche Theorie bestehe zu Recht.

Ungefähr zu der gleichen Zeit, wo Lowe auf Grund seiner Bastardierungsexperimente die Richtigkeit der Dzierzonschen Theorie bezweifelte, wurde Landois (1867) durch Experimente andrer Art zu der Ansicht geführt, daß alle von der Bienenkönigin abgesetzten Eier gleich beschaffen sind und das Geschlecht erst durch die Nahrung bestimmt wird. Landois übertrug Eier aus Arbeiterinnenzellen in Drohnenzellen und umgekehrt, und nach mehreren mißglückten Versuchen will er aus den »Arbeiterinneneiern« in Drohnenzellen Drohnen und aus »Drohneneiern« in Arbeiterinnenzellen Arbeiterinnen erzielt haben. Lediglich die verschiedene Fütterung der Larven in den verschiedenen Zellen soll die Entstehung von Drohnen einerseits und Arbeiterinnen und Königinnen anderseits zur Folge haben. Die Unrichtigkeit der Annahme Landois', der auch bei den übrigen Insekten in der Nahrung den geschlechtsbestimmenden Faktor sah, zeigte Siebold (1867) an einer ganzen Reihe von zweifellos feststehenden Tatsachen, so daß es kaum nötig gewesen wäre, die Übertragungsexperimente nachzuprüfen. Aber auch dies geschah, und zwar von den verschiedensten Seiten in umfangreichem Maße und mit den größten Vorsichtsmaßregeln (Kleine 1867, Bessels 1868, Sanson et Bastian 1868). Das Resultat war bei allen Nachuntersuchern gleichlautend: alle übertragenen Eier werden von den Arbeiterinnen wieder entfernt; die Zellen können dann von der Königin neu bestiftet werden, und aus diesen Eiern entstehen natürlich in den Drohnenzellen Drohnen, in den Arbeiterinnenzellen Arbeiterinnen. Außerdem wurden

zahlreiche neue Beobachtungen und Experimente gemacht, die alle zeigen, daß die Nahrung auf das Geschlecht keinen Einfluß ausübt[1]).

Der nächste bemerkenswerte Ansturm gegen die Dzierzonsche Theorie ging von dem Bienenzüchter F. Dickel (1898) aus. Er bestritt zwar nicht, daß unbefruchtete Eier sich zu Drohnen entwickeln, aber er war der Überzeugung, daß diese »falschen Drohnen« zur Fortpflanzung nicht fähig sind. Die »normalen Drohnen«, d. h. die von einer begatteten Königin stammenden männlichen Tiere, sollten alle aus befruchteten Eiern ihren Ursprung nehmen, es sollten mit andern Worten alle von einer normalen Königin abgesetzten Eier befruchtet sein. Die Geschlechtsbestimmung sollte Sache der Arbeiterinnen oder »Zweitweibchen« sein, die durch verschiedene »Bespeichelung« der Eier ihnen eine männliche, eine weibliche oder eine zwitterige — die Arbeiterinnen betrachtet Dickel als Zwitter — Richtung geben. Dickel, der seine Theorie in den nächsten Jahren vielfach umänderte und dabei immer mehr den Boden der Tatsachen unter den Füßen verlor, stützte seine Behauptungen auf eine Anzahl Experimente, die meist wieder in der Übertragung von Eiern aus einer Zellart in eine andre bestanden. Es wundert uns vielleicht heute, daß Dickel damals mit seinen phantastischen Vorstellungen nicht nur unter den Bienenzüchtern, sondern selbst in den Kreisen der Gelehrten so großes Aufsehen erregte, zumal, da die Angaben über die von ihm ausgeführten Experimente ganz unzureichend waren und man doch von den früheren Übertragungsexperimenten her die vielen Schwierigkeiten und Fehlerquellen kannte. Indessen die Aufmerksamkeit, die Dickel erregte, hatte auch ihr Gutes; gab sie doch den Anlaß, daß Weismann Eier aus Arbeiterinnen- und Drohnenzellen durch seine Schüler Paulcke (1899) und Petrunkewitsch (1901) untersuchen ließ, Untersuchungen,

---

[1]) Damit soll indessen nicht gesagt sein, daß es für die Entwicklung einer Bienenlarve bedeutungslos ist, was für Futter sie erhält. Daß die Unterschiede zwischen Königin und Arbeiterin auf verschiedene Fütterung zurückzuführen sind, wird ja wohl allgemein angenommen. Und was aus einer Drohnenlarve wird, die mit »königlichem Futter« aufgezogen wurde, zeigen die Beobachtungen vom Raths (1894). In einem weisellosen Stock hatten die Arbeiterinnen einige bestiftete Drohnenzellen zu Weiselzellen umgebaut in der Absicht, sich eine neue Königin aufzuziehen. Sehr bald wurde aber die Brut von den Arbeiterinnen aus den Weiselzellen herausgeworfen, sie erkannten offenbar, daß trotz der guten Fütterung nur Drohnen entstanden. Nur drei blieben zurück, und diese nahm vom Rath schließlich aus den Zellen heraus und untersuchte sie lebend und auf Schnittserien. Die Drohnen befanden sich bereits im letzten Puppenstadium und waren auffallend groß, von weiblichen Sexualorganen war jedoch nichts zu erkennen. Die Geschlechtsorgane zeigten auffallende Hemmungsbildungen und der Hinterleib der Tiere strotzte von einer gewaltigen Fettmasse.

die wieder wichtige Beweise für die Richtigkeit der Dzierzonschen Theorie brachten.

Die Arbeiten Petrunkewitschs — speziell die zweite — haben besonders durch Wheeler (1904) eine sehr scharfe Kritik erfahren und die vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß diese Kritik in manchen Punkten nicht unberechtigt war, aber mögen auch die Beobachtungen Petrunkewitschs in verschiedenen Punkten unrichtig gewesen sein, seine Untersuchungen sowie die Paulckes haben immerhin das mit Sicherheit ergeben, daß auch die »normalen Drohnen« aus unbefruchteten Eiern entstehen, und man darf wohl behaupten, daß damit die Dzierzonsche Lehre auf eine exakte Basis gestellt worden war und weiterer Stützen kaum mehr bedurfte.

Umso verwunderlicher muß es erscheinen, daß gerade das letzte Jahrzehnt besonders reich ist an den sonderbarsten Theorien über die Fortpflanzungsverhältnisse der Honigbiene. Vornehmlich Physiologen traten immer wieder als Zweifler an der parthenogenetischen Entstehung der Drohnen auf. Aber die Hypothesen, die sie an Stelle der Dzierzonschen Lehre setzen wollten, waren so haltlos, daß es sich kaum verlohnt, hier des näheren darauf einzugehen, und nur, um zu zeigen, zu welchen Behauptungen sich die Gegner Dzierzons verleiten ließen, mögen hier einige Beispiele folgen.

Im Jahre 1903 schreibt kein geringerer als Pflüger, die Parthenogenesis der Bienen sei eine »mangelhaft begründete und sehr wahrscheinlich unrichtige Hypothese.« Nach seiner Ansicht — eine Ansicht, die er übrigens 20 Jahre früher bereits einmal geäußert hatte (1882) — ist die Bienenkönigin ein Hermaphrodit und besitzt »einen männerzeugenden Hoden«. »Daß dieser Hode des Bienenweibchens bis jetzt unerkannt blieb, liegt wohl daran, daß seine Zellen keine Samenfäden erzeugen, die ja keine notwendige Form des männlichen Zeugungsstoffes bilden.«

Bachmetjew (1903) kommt auf Grund von Zählungen der Häkchen an den Flügeln von Arbeiterinnen und Drohnen zu folgenden absonderlichen Resultaten: »Der rechte Flügel der Drohnen und der linke Flügel der Arbeiterinnen sind das Produkt der Parthenogenese, während der linke Flügel der Drohnen und der rechte Flügel der Arbeiterinnen das Resultat der Befruchtung der Königineier darstellen. Sowohl die Arbeiterbienen wie auch die Drohnen stellen halbnormale Individuen dar, welche aus halbbefruchteten Eiern der Königin sich entwickeln.« Und 7 Jahre später (1910) schreibt er, ebenfalls auf Grund von Häkchenzählungen: »Drohnen von ein- und vierjähriger (und auch älteren) Königin entwickeln sich aus den unbefruchteten Eiern. Drohnen von zwei- oder drei-

jähriger Königin entwickeln sich teilweise aus unbefruchteten, teilweise aber aus befruchteten Eiern« usw.

Aber auch unter denen, die die Dzierzonsche Lehre als erwiesen erachteten, stellten einige (Beard 1902, v. Lenhossek 1903, Schultze 1904) recht merkwürdige Hypothesen auf. Die drei genannten Forscher waren alle durch anderweitige Untersuchungen zu der Ansicht geführt worden, daß das Geschlecht bereits im unbefruchteten Ei bestimmt sei und die Befruchtung keinen Einfluß auf dasselbe habe. Um nun die Fortpflanzungsverhältnisse bei der Honigbiene mit ihrer Theorie in Einklang zu bringen — alle waren, wie gesagt, Anhänger der Dzierzonschen Lehre —, nahmen sie an, daß das Ovar der Bienenkönigin männlich und weiblich präformierte Eier enthalte, daß aber nur die weiblich präformierten einer Befruchtung bedürften, während die männlich präformierten sich unbefruchtet entwickelten oder gar überhaupt nicht befruchtungsfähig seien. Daß sie aber mit ihrer Annahme die Drohnenbrütigkeit nicht erklären können, scheinen sie selbst einzusehen, trotzdem z. B. Lenhossek schreibt: »Meiner Ansicht nach besteht keine Schwierigkeit anzunehmen, daß in allen Fällen, wo die Samentasche der Königin der zur Befruchtung tauglichen lebenskräftigen Samenfäden entbehrt, sei es, daß die Paarung mit dem männlichen Tiere unterblieben ist, sei es, daß die im Receptaculum aufgespeicherten Samenfäden durch hohes Alter der Königin oder aus andern Gründen abgestorben oder zur Befruchtung unfähig geworden sind, es gar nicht zur Bildung weiblicher Eier kommt, oder zumindest, wenn solche auch angelegt sind, nicht zu deren vollkommener Ausreifung und Ausscheidung.« Im übrigen sei auf die Ausführungen von Buttel-Reepens (1904), eines ausgezeichneten Kenners der Biologie der Bienen, hingewiesen, der die Präformationstheorie in ihrer Anwendung auf die Honigbiene einer eingehenden Kritik unterzogen hat[1]).

[1]) In allerjüngster Zeit hat Godlewski (1913) die Lenhossekschen Ideen wieder aufgegriffen. Er erklärt: »Mir scheint die von Lenhossek ausgesprochene Vermutung vollkommen berechtigt zu sein, daß die Eier, aus denen Drohnen hervorgehen, nicht befruchtet werden, weil sie eben eine andre Konstitution haben und deshalb nicht befruchtungsbedürftig sind. Demnach sollte man annehmen, daß die Bienen zwei Eierarten produzieren, von denen die eine der Befruchtung als entwicklungserregenden Momentes bedarf, die andre dagegen zur Parthenogenese bestimmt ist. Wir hätten also hier einen Übergang von der exzeptionellen Parthenogenese zu der normal-konstanten, bei welcher die eine Art der Eier sich konstant und normal parthenogenetisch entwickelt, die andre dagegen erst nach erfolgter Befruchtung.« Daß, wie gesagt, Buttel-Reepen die Haltlosigkeit der Lenhossekschen Theorie einwandfrei nachgewiesen hat, scheint Godlewski nicht bekannt zu sein.

Indessen auch eine neue Bestätigung der Dzierzonschen Lehre brachte das letzte Jahrzehnt. Es sind die Untersuchungen von Meves (1904, 1907), Mark and Copeland (1907) und Doncaster (1906a, 1907b) über die Spermatocytenteilungen bei der Honigbiene. Es findet bei dieser nicht wie bei aus befruchteten Eiern entstandenen Tieren im Verlauf der Spermatogenese eine Reduktion der Chromosomenzahl statt, sondern jede Spermatide erhält soviel Chromosomen, wie auch in den Kernen der Spermatogonien vorhanden sind.

Sprechen einerseits diese Untersuchungen ja entschieden zugunsten Dzierzons, so wurden doch die cytologischen Verhältnisse durch sie noch nicht vollständig geklärt, im Gegenteil erschien jetzt manches unklarer als zuvor, und besonders Giglio-Tos (1905) machte darauf aufmerksam, daß die Angaben von Petrunkewitsch und die von Meves über die Chromosomenzahlen nicht miteinander in Einklang zu bringen sind. Und da auch die übrigen Angaben Petrunkewitschs teilweise wenig glaubwürdig erschienen, so mehrten sich in den letzten Jahren die Stimmen, die eine Nachuntersuchung der Eireifung und der ersten Embryonalentwicklung für notwendig hielten. Es kam vornehmlich auf eine genaue Feststellung des Verlaufes der Eireifung sowie der Chromosomenzahlen in den verschiedenen Zellen an, wobei besonders auf das Vorhandensein von Geschlechtschromosomen zu achten war.

Ehe ich dazu übergehe, diese von mir in den letzten Jahren im Münchener Zoologischen Institut ausgeführten Untersuchungen darzustellen, müssen wir die bisherigen, im vorigen nur kurz erwähnten cytologischen Untersuchungen über die Geschlechtsbestimmung bei der Honigbiene noch etwas näher betrachten.

Der erste, der die Reifung der Eier aus Drohnen- und Arbeiterinnenzellen vergleichend untersuchte, war Blochmann (1889). Er stellte fest, daß sowohl in den befruchteten als auch in den unbefruchteten Bieneneiern zwei Richtungskörper abgeschnürt werden. In den Eiern aus Arbeiterinnenzellen fand er meist mehrere Samenfäden. Über das Schicksal der Richtungskörper äußert er sich folgendermaßen: »Die Richtungskerne rücken sodann, so wie sie sind, näher zusammen und werden von einer ziemlich großen Vacuole des oberflächlichen, vom Dotter freien Plasmas umschlossen. In dieser Vacuole zerfallen sie in feine Chromatinkörnchen, welche dann durch den ganzen Hohlraum der Vacuole sich zerstreuen. Die Vacuole (Richtungskernmasse) ist noch in den ersten Stadien der Blastodermbildung leicht nachzuweisen. Man darf wohl annehmen, daß ihr Inhalt, die Chromatinkörnchen, später aus dem Ei entfernt wird . . . In wenigen Präparaten habe ich auch gefunden, daß

zwei getrennte Vacuolen existieren.« Schon aus den Untersuchungen von Blochmann ging also hervor, daß die Eireifung in allen Bieneneiern in gleicher Weise verläuft, daß aber auch die »normalen« Drohneneier unbefruchtet sind. Blochmann war indessen von der Richtigkeit der Dzierzonschen Theorie so überzeugt, daß er seine Feststellung gar nicht besonders betonte, und so kam es, daß die für die damalige Zeit ausgezeichneten Beobachtungen gar nicht die Würdigung erfuhren, die sie verdienten.

Mit wesentlich verbesserten Methoden und einer vollkommeneren Technik konnten Paulcke (1899) und Petrunkewitsch (1901, 1903) ihre Untersuchungen durchführen. Petrunkewitsch, der die von Paulcke begonnenen Untersuchungen zu Ende führte, bestätigte zunächst die Angabe Blochmanns, daß die Eireifung in den Arbeiterinnen- und Drohneneiern in gleicher Weise verläuft. Was die Besamung der Bieneneier anbetrifft, so konnte auch Petrunkewitsch in den Eiern aus Drohnenzellen kein Sperma finden. Allerdings konnte er auch in eben abgelegten Eiern aus Arbeiterinnenzellen den Spermakern, bzw. die Spermakerne — auch die Angaben Blochmanns über die Polyspermie konnte Petrunkewitsch bestätigen — nicht beobachten, sondern der Unterschied zwischen besamten und unbesamten Eiern wurde erst auf einem etwas späteren Stadium sichtbar, nämlich dann, wenn sich in ersteren die Spermastrahlung entwickelte. »Diese Strahlung tritt schon zu Ende der Bildung des ersten Richtungskörpers auf, erreicht aber erst bei der Bildung des zweiten Richtungskörpers ihre größten Dimensionen und kann bis zur Kopulation der Pronuclei verfolgt werden.«

In der Äquatorialplatte der ersten Richtungsspindel zählte Petrunkewitsch 16 Chromosomen. Die erste Reifungsteilung ist eine Äquationsteilung, so daß wir zwei Chromatingruppen erhalten mit je 16 Chromosomen. Beide, die Ovocyte zweiter Ordnung und der erste Richtungskörper wandeln sich ohne vorherige Bildung von Ruhekernen in Spindeln um und teilen sich von neuem. Die zweite Reifungsteilung ist eine Reduktionsteilung, und es resultieren vier Chromatingruppen mit je acht Chromosomen. Die innerste Chromatingruppe wird alsbald zum weiblichen Vorkern, der in befruchteten Eiern ins Innere des Eies dem männlichen Vorkern entgegenwandert. Die beiden inneren Chromatingruppen, zweiter Richtungskörper und centrale Hälfte des ersten, verschmelzen regelmäßig miteinander zu einem »Richtungskopulationskern«, während die periphere Hälfte des ersten Richtungskörpers zugrunde geht. Der »Richtungskopulationskern« liefert in dem Drohnenei »durch dreifache Teilung acht Zellen mit doppelten Kernen«, aus denen,

wie Petrunkewitsch in seiner zweiten Arbeit (1903) zu beweisen sucht, die Geschlechtszellen der männlichen Larve entstehen. »In befruchteten Eiern, sowie in Arbeitsdrohneneiern bildet sich der »Richtungskopulationskern« zu einer Spindel um, diese geht aber einfach zugrunde oder liefert eine bis vier Zellen, die aber immer Zerfallserscheinungen des Chromatins aufweisen und schließlich auch zugrunde gehen«; die Genitaldrüsen der Weibchen entstehen »aus Mesodermzellen, die in die Mesodermröhren von der Bauchseite her eindringen.«

In den unbefruchteten Eiern bleibt während der Embryonalentwicklung nicht die reduzierte Chromosomenzahl erhalten, sondern es wird die Normalzahl im weiblichen Pronucleus »vermutlich durch Längsspaltung der Chromosomen mit einem Ausbleiben der entsprechenden Teilung in zwei Tochterkerne« wieder hergestellt, so daß nach Petrunkewitsch die Furchungskerne aller Bieneneier 16 Chromosomen enthalten. In allen Eiern zerfallen die 16 Chromosomen am Ende der Furchung in Chromosomen von geringerer Wertigkeit, d. h. die Äquatorialplatten der Blastodermspindeln enthalten in Arbeiterinnen- und Drohneneiern je 64 Chromosomen.

Meves untersuchte als erster die Spermatocytenteilungen bei der Honigbiene (1904, 1907). Die erste Spermatocytenteilung besteht in der Abschnürung einer einfachen Cytoplasmaknospe, die Chromatin nicht enthält. Meves bezeichnet sie als »ersten Richtungskörper«. An die erste Reifungsteilung schließt sich unmittelbar die zweite an. Die Kernmembran wird aufgelöst, und die Chromosomen werden in den Äquator einer Spindelfigur verlagert. Meves konnte die Chromosomenzahl auf 16 bestimmen, und da die zweite Reifungsteilung eine Äquationsteilung ist, erhält jede Spermatide 16 Chromosomen. Auch durch die zweite Reifungsteilung werden keine gleichwertigen Körper gebildet, sondern die eine Gruppe von Tochterchromosomen wird von einem Cytoplasmakegel aufgenommen, der dann als »zweiter Richtungskörper« abgetrennt wird. Während die zurückbleibenden großen Zellen sich in Spermien umwandeln, gehen die ersten Richtungskörper und aller Wahrscheinlichkeit nach auch die zweiten zugrunde. Die Reduktionsteilung muß nach Meves im Hoden der Honigbiene deshalb unterbleiben, weil »die Drohne sich aus einem unbefruchtet gebliebenen Ei entwickelt, welches zwei Richtungskörperchen ausgestoßen hat. Sämtliche Zellen, welche von diesem Ei abstammen, also auch die Genitalzellen, müssen demnach reduzierte Kerne, d. h. also solche mit der halben Chromosomenzahl und Chromatinmenge besitzen.« Nach Meves ist mithin 16 die haploide

Chromosomenzahl, nach Petrunkewitsch aber ist 16 die diploide, und da nach Petrunkewitsch die Geschlechtszellen der Drohnen aus den verschmolzenen Richtungskörpern entstehen, müßten sie die diploide Chromosomenzahl besitzen, und es müßte, wie bei aus befruchteten Eiern entstandenen Tieren, in der Spermatogenese eine Reduktionsteilung erfolgen. Die Bildung des »zweiten Richtungskörpers« bzw. das Zugrundegehen der kleineren durch die zweite Reifungsteilung gebildeten Spermatide sucht Meves mit Zweckmäßigkeitsgründen zu erklären: »Eine doppelt so große Anzahl von Spermien, wie sie resultieren würde, wenn die zweite Reifungsteilung bei der Honigbiene ebenso wie bei der Wespe die Entstehung von zwei gleichgroßen Tochterzellen zur Folge hätte, wäre demnach offenbar unnütz; es hat den Zwecken der Art besser entsprochen, weniger Spermien zu bilden und diese besser auszurüsten.«

Mark and Copeland (1906) kamen zu fast den gleichen Resultaten wie Meves. Daß sie in der von Meves als erste Spermatocytenteilung beschriebenen Abschnürung einer Cytoplasmaknospe keine Reifungsteilung sehen, sondern die Cytoplasmaknospe als »interzonal body«, als Spindelrestkörper, betrachten, ist für uns hier belanglos.

Doncaster hingegen gab in seiner ersten Mitteilung (1906b) andre Chromosomenzahlen an. Er wollte gefunden haben, daß nicht 16, sondern acht Chromosomen in jede Spermatide kommen, eine Angabe, die er indessen später (1907b) dahin berichtigte, daß tatsächlich jede Spermatide 16 Chromosomen erhält, daß aber je zwei miteinander vereinigt sind.

Betrachten wir nunmehr die eignen Untersuchungen. Zuvor aber sei es mir noch gestattet, eine angenehme Pflicht zu erfüllen. Mein herzlichster Dank gebührt meinen hochverehrten Lehrern, Herrn Geheimrat v. Hertwig und Herrn Professor Goldschmidt, der die Anregung zu vorliegender Arbeit gegeben hat. Beide verfolgten stets mit dem regsten Interesse meine Untersuchungen.

Spezieller Teil.

1. Material und Methoden.

Als ich die vorliegenden Untersuchungen begann, war ich mit der Bienenzucht noch nicht vertraut und wußte nicht, ob es mir möglich sein werde, das zu ihnen nötige Material selbst am Bienenstande zu konservieren. Ich wandte mich deshalb an Herrn F. Dickel in Darmstadt, der ja bereits wiederholt Bieneneier zu wissenschaftlichen Untersuchungen geliefert hatte. Dickel war denn auch gleich bereit, mir das Material

zu beschaffen und es gebührt ihm mein herzlichster Dank für seine Bemühungen. Aber wie es PETRUNKEWITSCH ging, so erging es auch mir. Schon die Untersuchung der ersten Eier ergab, daß die Angaben DICKELS über das Alter der mir übersandten Eier nicht richtig waren. Als ich DICKEL hierauf aufmerksam machte, antwortete er mir, ein Irrtum seinerseits sei nicht ausgeschlossen. da seine geschwächten Augen die Eier nicht immer zu erkennen vermöchten. Da es mir indessen darauf ankam, Herkunft und Alter meines Materials möglichst genau zu kennen, so legte ich das DICKELsche Material als unbrauchbar beiseite und bemühte mich, selbst eine genügende Zahl von Eiern zu konservieren[1]). Die Gewinnung eben abgelegter Bieneneier in größerer Zahl ist indessen nicht leicht und setzt eine ziemliche Erfahrung im Umgang mit den Bienen voraus. Es galt also zunächst, selbst Imker zu werden, und es sei mir hier gestattet, Herrn G. BAMBERGER, Bienenzüchter in München, meinen aufrichtigen Dank auszusprechen für seine ausgezeichnete Einführung in die Bienenzucht. Er stand mir nicht nur jederzeit mit Rat und Tat zur Seite, sondern stellte mir auch seinen eigenen großen Bienenstand bereitwillig zur Verfügung, wie er überhaupt meinen Untersuchungen immer reges Interesse entgegenbrachte. Auch Herrn K. HOFMANN, Kgl. Landesinspektor für Bienenzucht, danke ich für manchen Rat und manche Unterstützung.

Das zur Gewinnung der Eier angewandte Verfahren war folgendes. Die Königin wurde auf eine der drei vordersten Waben gesetzt und ihr ein Zurückgehen auf die hinteren Waben durch Einhängen des Absperrgitters unmöglich gemacht. Hatte sie die drei vordersten Waben bestiftet, so wurde eine, am besten die mittlere, herausgenommen und an

---

[1]) Ich habe diesen Vorfall nur erwähnt, um zu zeigen, wie wenig die Experimente DICKELS Anspruch auf Exaktheit machen können und wie wenig sie infolgedessen einer Beachtung wert sind. Wenn ja auch DICKEL, der in Imkerkreisen immer noch bald mit mehr, bald mit weniger Erfolg seine Geschlechtsbestimmungstheorien zu verbreiten sucht, in wissenschaftlichen Kreisen kaum noch Anhänger hat, so hört man doch noch hin und wieder Stimmen, die eine Prüfung der DICKELschen Übertragungsexperimente für wünschenswert halten. Alle Experimente DICKELS können einer wissenschaftlichen Kritik nicht standhalten. Wie gut ich übrigens daran tat, das DICKELsche Material nicht weiter zu benutzen, sollte mir erst später klar werden. Ich hatte bereits einen Teil meiner Resultate in einem Vortrag vorläufig mitgeteilt (1912), da trat DICKEL, der nicht wußte, daß sein Material bei den Untersuchungen keine Verwendung gefunden hatte, plötzlich mit der Behauptung hervor. ich sei überhaupt nicht imstande, Drohneneier von Eiern aus Weisel- oder Arbeiterinnenzellen zu unterscheiden; denn in einem Gläschen, das laut Etikettierung Eier aus Weiselzellen enthalten sollte, seien Eier aus Weisel- und Drohnenzellen gemischt gewesen, ich aber halte alle für Eier aus Weiselzellen!

ihre Stelle eine leere, von den Arbeiterinnen zur Bestiftung bereits vorbereitete Wabe hineingehangen. Nach zwei Stunden wurde die Wabe nachgesehen. Fanden sich dann bereits Eier in ihr, so konnten sie höchstens 2 Stunden alt sein, aller Wahrscheinlichkeit nach aber waren sie viel jünger, da das Öffnen des Bienenstockes und das Abkehren der Waben immer eine beträchtliche Störung und Aufregung des Volkes mit sich bringt und die Königin infolgedessen erst nach geraumer Zeit mit dem Eierlegen beginnt. Sehr häufig natürlich oder vielmehr meistens findet man nach 2 Stunden überhaupt noch keine Eier; es hängt das sehr von den Witterungsverhältnissen und den Zuständen im Stock ab, vor allem darf man das Volk nicht allzuhäufig beunruhigen. Auch ist es viel schwerer, Drohneneier als Arbeiterinneneier in genügender Zahl zu erhalten. Die bis 2 Stunden alten Eier wurden entweder sofort fixiert oder in der Wabe hinter das Absperrgitter gehangen, so daß die Königin keine weiteren Eier hinzulegen konnte. Auf diese Weise gelang es, Eier jeglichen Alters zu erhalten. Vermittels einer feinen, an der Spitze etwas umgebogenen Nadel konnten die Eier leicht aus den Zellen genommen werden.

Die zum Studium der Ovogenese und Spermatogenese nötigen Ovarien und Hoden habe ich ebenfalls selbst konserviert. Mehrere Bienenzüchter lieferten mir zahlreiche lebende Königinnen und Königinnenpuppen, und auch Herrn Professor E. ZANDER, Leiter der Kgl. Anstalt für Bienenzucht in Erlangen, bin ich für seine freundliche Unterstützung zu Dank verpflichtet.

Die Eier wurden fast ausschließlich mit GILSONS Gemisch in der von PETRUNKEWITSCH (1901) angegebenen Modifikation fixiert. Anfangs wandte ich auch verschiedene andre Fixierungsflüssigkeiten an, wie FLEMMINGS, HERMANNS, CARNOYS Gemische, Sublimat-Eisessig, aber keine erwies sich als so geeignet, wie das Gemisch PETRUNKEWITSCHS. Die Fixierungsdauer schwankte zwischen 6 und 24 Stunden. Für die Fixierung der Ovarien und Hoden wurde ebenfalls PETRUNKEWITSCHS Gemisch verwandt, daneben aber kamen mit ungefähr gleichem Erfolge andre Gemische in Anwendung, so FLEMMINGS, HERMANNS, BOUINS und ZENKERS Gemische. Die Hoden-Ausstrichpräparate wurden teilweise mit heißem ZENKERschem Gemisch (von ungefähr 50°), teilweise mit SCHAUDINNS Gemisch fixiert.

Das Einbetten der Eier ist zwar, wenn man Schrumpfungen vermeiden will, nicht leicht, gelingt aber bei einiger Vorsicht auch über Xylol ganz gut. Das Schneiden bietet im Vergleich mit andern Insekteneiern nur geringe Schwierigkeiten. Alle Eier wurden sagittal geschnitten.

Diese Schnittführung ist zum Studium der Richtungsspindeln am geeignetsten. Da die Eier sich im flüssigen Paraffin gewöhnlich von selbst auf die Seite legen, so lassen sich auch Sagittalschnitte am bequemsten herstellen. Die Schnittdicke betrug immer 5 μ. Die Färbung mit Heidenhains Eisenhämatoxylin und Nachfärbung mit Lichtgrün oder noch besser Eosin lieferte die schärfsten und kontrastreichsten Bilder. Daneben wurden noch mehrere Färbungen zur Kontrolle benutzt, z. B. Boraxcarmin-Lichtgrün, Safranin-Lichtgrün, Indigocarmin-Pikrinsäure-Magentarot.

2. Eireifung und Befruchtung.

a) Erste Reifungsteilung.

Zur Zeit der Ablage des Bieneneies hat sich, wie schon Blochmann (1889) feststellte, das Keimbläschen bereits in die erste Richtungsspindel umgewandelt. Diese liegt nahe dem vorderen, bei der Ablage zuletzt austretenden und später frei in die Zelle ragenden Pole des Eies auf der konvexen Seite, der Ventralseite des späteren Embryos. Das Keimhautblastem ist an dieser Stelle stark verdickt und ragt kegelförmig in das Eiinnere vor; wir wollen diese Plasmaanhäufung mit Petrunkewitsch der Kürze wegen als Richtungsplasma bezeichnen. Fig. 1 auf Taf. VII gibt die erste Richtungsspindel eines Eies wieder, das gleich nach der Ablage fixiert wurde. Wir sehen, daß bei der Ablage des Eies nicht nur die Spindel bereits gebildet ist, sondern die Tochterchromosomen sind sogar schon an die Pole gerückt. Trotzdem indessen die Teilung soweit vorgeschritten ist, ist die Kernmembran noch vollkommen erhalten und das Keimbläschen noch vollständig rund. Auch bei den Furchungsspindeln erfolgt, wie ich weiter unten näher erörtern werde, die Anlage innerhalb der Kernmembran. Aber die Kernmembran verschwindet hier sehr bald. und im Stadium der Äquatorialplatte ist meist nichts mehr von ihr zu sehen.

Die einzelnen Chromosomen liegen in beiden Polplatten ziemlich weit auseinander, so daß ihre Zahl in diesem Stadium verhältnismäßig leicht festzustellen ist. Die eine Polplatte der in Fig. 1 abgebildeten Spindel, der spätere erste Richtungskörper, besteht aus acht Doppelchromosomen; die andre ist aus ebensoviel Chromosomen zusammengesetzt, jedoch liegt sie nicht vollständig auf dem Schnitt. Die Dyadennatur ist bei den meisten Chromosomen sehr deutlich, ja bei einigen sind die Hälften der Dyaden durch einen deutlichen Spalt voneinander getrennt, und wenn auch nie 16 selbständige Chromosomen in einer Polplatte der ersten Richtungsspindel liegen, so erscheint uns die Angabe Petrunke-

witschs, daß die Polplatten der ersten Richtungsspindel je 16 Chromosomen enthalten, nicht so ganz unverständlich, zumal, wenn wir bedenken, daß Petrunkewitsch Eisenhämatoxylin zur Färbung überhaupt nicht anwandte. Denn wenn auch Delafields Hämatoxylin, Safranin usw. ganz gute Bilder geben, so eignet sich doch bei unserm Objekt, wenn es sich um eine sichere Feststellung der Chromosomenzahl handelt, einzig und allein das Eisenhämatoxylin. Bei Färbungen mit Eisenhämatoxylin und Nachfärbung mit Eosin treten die einzelnen Chromosomen so scharf wie bei keiner andern Färbung hervor, und das ist bei der Kleinheit der Elemente und ihrer meist sehr gedrängten Lage durchaus notwendig. Letztere Tatsache ist allerdings auch wieder ein Grund, daß eine gute Färbung mit Eisenhämatoxylin nicht leicht ist, und häufig war eine zweite oder gar mehrmalige Differenzierung notwendig, bis der richtige Grad erreicht war.

Die Spindel liegt anfangs (Fig. 1) ungefähr parallel zur Oberfläche des Eies. Sehr bald aber verändert sie ihre Lage; sie dreht sich um einen rechten Winkel, so daß sie schließlich (Fig. 2) nahezu senkrecht zur Oberfläche des Eies steht. Während der Drehung streckt sich die Spindel, ohne daß aber zunächst die Kernmembran zerreißt. Die Zerreißung der Kernmembran findet erst statt, wenn die Spindel sich stärker in die Länge zieht (Fig. 3), und zwar zerreißt sie meist auf beiden Seiten in der Mitte der Spindel. Erfolgt nun eine weitere Streckung der Spindel, so werden die Überreste der Kernmembran, die um die innere Chromatingruppe liegen, von dieser mit gegen das Eiinnere gezogen, verschwinden indessen sehr bald vollständig. So sind in Fig. 4 nur noch geringe Überreste an der inneren Chromatingruppe sichtbar. Auch hierin verhält sich die Kernmembran der ersten Richtungsspindel anders als die der sich zur Teilung anschickenden Furchungskerne. Während die Kernmembran des Keimbläschens von der Spindel geradezu gesprengt wird und dann die Überreste allmählich resorbiert werden, verschwindet die Kernmembran der Furchungskerne fast plötzlich bei Ausbildung der Äquatorialplatte.

Für die erste Richtungsspindel sind die stark verdickten Fasern charakteristisch. Solange der Kern noch vollkommen rund ist (Fig. 1), treten sie noch nicht deutlich hervor, sobald aber die Spindel sich dreht und streckt, gewinnen sie ihr typisches Aussehen und bilden dann eine das Eisenhämatoxylin stark festhaltende breite Platte zwischen den beiden Polplatten (Fig. 2 u. 3). Die Zahl der Fasern ist jedenfalls größer als die der Chromosomen; in den abgebildeten Spindeln sind, um die Bilder nicht unklar zu machen, nicht alle Fasern eingezeichnet. Derart ver-

dickte Fasern in den Richtungsspindeln von Insekteneiern sind ja bereits häufig beschrieben worden (Blochmann 1886, 1889, Henking 1892, Schleip 1908 usw.). Sie scheinen indessen bei den verschiedenen Gruppen von Insekten und auch wieder innerhalb der einzelnen Gruppen ein sehr verschiedenes Verhalten im Verlaufe der Eireifung zu zeigen. Während bei den einen Überreste von ihnen noch sehr lange sichtbar sind, verschwinden sie bei den andern sehr bald. Ich will mich hier auf die Hymenopteren beschränken und erwähne nur die Feststellungen Schleips (1908). Nach Schleip wandeln sich bei den Ameisen die Faserüberreste, die sogenannte Mittelplatte, »in eine Platte von feinwabigem Protoplasma um, die zuweilen aus einer mittleren, dunkleren und zwei äußeren, helleren Schichten besteht«. Anders bei der Honigbiene. In Fig. 3 sind die verdickten Fasern noch sehr deutlich, ja sie scheinen das Eisenhämatoyxlin noch etwas stärker zu halten als im vorhergehenden Stadium (Fig. 2), aber es färbt sich nicht mehr wie dort nahezu die ganze Faser, sondern nur noch der mittlere Teil, man möchte fast glauben, es wolle sich eine typische Mittelplatte ausbilden. Das nächste Stadium (Fig. 4) zeigt, daß dem nicht so ist. Denn wenn sich nun die Spindel weiter in die Länge zieht, so strecken sich auch die Fasern und verlieren damit ihre Färbbarkeit: in Fig. 4 sind sie fast achromatisch. Die innere Polplatte der in Fig. 4 abgebildeten Spindel hat sich etwas gedreht, so daß die Fasern schwach spiralig verlaufen. Dies ist indessen ein Verhalten, das durchaus nicht als Regel zu betrachten ist. In Fig. 5 sind die Faserverdickungen vollständig verschwunden, und auf späteren Stadien sieht man nie mehr Überreste von ihnen, ganz im Gegensatz zu den Zellplatten der Furchungsspindeln, die noch lange nach Ablauf der Teilung sichtbar sind. Allerdings gibt Schleip an, daß auch bei den Ameisen die aus der Mittelplatte der ersten Richtungsspindel hervorgehenden Bildungen sehr bald verschwinden.

Die Chromosomen der inneren Polplatte zeigen von Anfang an viel mehr die Tendenz, sich zusammenzuballen als die der äußeren, des ersten Richtungskörpers. Auch in den vorgerückteren Stadien ist in diesem ein Zählen der Chromosomen häufig noch möglich. Was die Größe der einzelnen Dyaden anlangt, so sind alle untereinander ziemlich gleich groß. Bisweilen erscheint diese oder jene Dyade etwas größer als die übrigen, aber der Unterschied ist so minimal, daß sich bei der Kleinheit der Chromosomen nicht mit Sicherheit entscheiden läßt, ob es sich um konstant auftretende Unterschiede handelt oder um nur zufällige — vielleicht durch zufälliges Übereinanderliegen zweier Dyaden hervorgerufene — Erscheinungen. Daß überhaupt die Honigbiene für cytologische Unter-

suchungen ein sehr wenig günstiges Objekt ist, dürfte schon aus den Abbildungen genügend hervorgehen.

b) Zweite Reifungsteilung und Teilung des ersten Richtungskörpers.

Sobald die erste Richtungsspindel zerrissen ist (Fig. 5), bildet sich die innere Chromatingruppe zur Äquatorialplatte der zweiten Richtungsspindel um. Ein Ruhekern zwischen der ersten und zweiten Reifungsteilung fehlt also. Auch die Chromosomen des ersten Richtungskörpers ordnen sich in der Mitte einer Spindel an, und fast gleichzeitig (Fig. 6) beginnt in beiden Spindeln die Anaphase. Während die zweite Richtungsspindel fast senkrecht zur Oberfläche des Eies beträchtlich tiefer im Innern als die erste liegt, ist die Spindel des ersten Richtungskörpers schräg zur Oberfläche orientiert und liegt unmittelbar unter ihr. Die Lage der Spindel zur Oberfläche ist indessen nicht immer genau die gleiche; so liegt sie in Fig. 7 fast parallel zu ihr, in Fig. 8 steht sie nahezu senkrecht auf ihr. Auch die Lage der Teilungsprodukte des Richtungskörpers zueinander wechselt; meist liegt allerdings die periphere Hälfte höher, d. h. dem Vorderrande des Eies näher[1]), als die centrale (Fig. 6, 7, 8, 10, 11), es kann aber, wie Fig. 9 zeigt, auch das Umgekehrte der Fall sein.

Zum Zählen der Chromosomen eignet sich die zweite Richtungsspindel weniger als die erste. Denn im Stadium der Metaphase liegen die Chromosomen meist sehr dicht zusammen und in der Anaphase verklumpen sie gewöhnlich sehr bald. Immerhin waren einige Bilder (z. B. Fig. 7) doch klar genug, um mit einiger Sicherheit die Behauptung zuzulassen, daß jede der vier Chromatingruppen acht Chromosomen erhält. Auch hier habe ich wieder besonders auf Größenunterschiede der einzelnen Chromosomen geachtet, sowie auf die Anwesenheit eines Heterochromosoms. Es wäre ja denkbar, daß ein solches im Ei vorhanden wäre und vielleicht in den befruchteten und unbefruchteten Eiern verschieden auf die vier Chromatingruppen verteilt würde. Aber wenn ich es auch hier wieder unentschieden lassen möchte, ob geringe konstante Größendifferenzen zwischen den einzelnen Chromosomen verhanden sind, so halte ich es doch für ausgeschlossen, daß eine ungleiche Verteilung von Chromosomen erfolgt, vielmehr kommen auf jede der vier Chromatingruppen acht ungefähr gleichgroße Chromosomen.

In der Anaphase ballen sich, wie gesagt, die Chromosomen sehr bald zusammen; dabei fällt auf, daß die Chromosomen der beiden Hälften

[1]) Die Figuren der Taf. VII sind alle so orientiert, daß das Vorderende des Eies oben läge, wenn die Eier ganz gezeichnet würden.

des ersten Richtungskörpers nicht einen einheitlichen Chromatinballen bilden, sondern gewöhnlich je zwei zunächst noch getrennte Gruppen, jede aus vier Chromosomen bestehend (Fig. 8, 9, 10). Die Teilung des ersten Richtungskörpers eilt der zweiten Reifeteilung insofern etwas voraus, als in der Anaphase die Spindel des ersten Richtungskörpers viel früher zerreißt (Fig. 9). Die zweite Richtungsspindel zieht sich sehr stark in die Länge, ehe sie zerreißt (Fig. 10). Eine Mittelplatte oder auch nur die Spuren einer solchen beobachtet man während der zweiten Reifungsteilung nie. Dasselbe geben auch Henking (1892) und Schleip (1908) für Ameisen an.

Ein sehr charakteristisches Verhalten zeigt das Plasma während der Teilung des ersten Richtungskörpers. Wenn zu Beginn der Anaphase die Dyadenhälften des ersten Richtungskörpers getrennt werden, so ändern fast nur die Chromosomen der inneren Polplatte ihre Lage, während die der äußeren ihre ursprüngliche Lage ganz am Rande des Plasmas beibehalten. Wenn nun die centrale Hälfte des ersten Richtungskörpers gegen das Innere des Eies vorrückt, so staut sich gewissermaßen das körnige Plasma vor ihr und bildet einen Wall dichteren Plasmas zwischen ihr und dem zweiten Richtungskörper (Fig. 8, 9, 10, 11), der gerade in der entgegengesetzten Richtung, d. h. gegen den Rand hin, sich bewegt. Hinter der centralen Hälfte des ersten Richtungskörpers verliert infolgedessen das Plasma an Dichtigkeit und wir erhalten einen hellen Hof, der fast körnchenfrei ist. Ich habe gesagt, das Plasma staue sich bei dem Vorrücken der Chromatingruppe. Diese Erklärung gibt jedoch zunächst keine Antwort auf die Frage, wie es kommt, daß nur hier das Plasma sich staut, während es vor dem zweiten Richtungskörper oder dem späteren weiblichen Pronucleus sein Aussehen nicht im geringsten verändert. Es ist indessen, wie mir scheint, von Wichtigkeit zu beachten, daß bei dem Vorrücken der centralen Hälfte des ersten gegen den zweiten Richtungskörper sich zwei Kräfte entgegenwirken, daß aber, wie die Fig. 7—11 sehr schön zeigen, der zweite Richtungskörper — ähnlich wie die periphere Hälfte des ersten — nur ganz wenig seine ursprüngliche Lage (Fig. 7) verändert, er läßt gewissermaßen die centrale Hälfte des ersten Richtungskörpers zu sich herankommen. Daß wir es bei der geschilderten, regelmäßig auftretenden Plasmastruktur — von der übrigens Petrunkewitsch, der doch die gleiche Fixierungsflüssigkeit benutzte, nichts gesehen hat — nicht mit einem durch die Fixierung hervorgerufenen Kunstprodukt zu tun haben, geht wohl schon aus ihrem ganzen, unten weiter beschriebenen Verhalten zur Genüge hervor. Eine weitere Plasmaveränderung, so das Auftreten einer Plasma-

strahlung, beobachtet man nicht. Ebensowenig habe ich im Verlauf der Reifungsteilung jemals ein Centrosom oder ein Centriol — und das stimmt mit allen bisherigen Beobachtungen über die Eireifung der Insekten überein — feststellen können.

c) Die Umwandlung der Spermatozoen in männliche Vorkerne und die Kopulation der Pronuclei im Arbeiterinnenei.

Ehe wir das Verhalten der Richtungskörper und des weiblichen Vorkernes, der nach Zerreißen der zweiten Richtungsspindel (Fig. 10) alsbald aus der innersten Chromatingruppe hervorgeht (Fig. 11), betrachten, wollen wir die Umwandlung der Spermatozoen in männliche Vorkerne in den Arbeiterinneneiern verfolgen.

Untersucht man ein möglichst bald nach der Ablage fixiertes Arbeiterinnenei, also ein Ei, in dessen Keimbläschen — wie in Fig. 1 — die erste Richtungsspindel bereits angelegt ist, so findet man in der Nähe des vorderen Eipoles meist mehrere noch wenig veränderte Spermatozoen (Fig. 12). Als ich zum erstenmal solche noch ganz junge Arbeiterinneneier untersuchte und in allen die Spermatozoen fand, war ich nicht wenig überrascht. Denn PETRUNKEWITSCH gibt bekanntlich an, daß »man den Spermakern erst dann sehen kann, wenn er schon eine Strahlung um sich gebildet hat . . . Dagegen kann der Spermakern ohne Strahlung bei seiner verhältnismäßig sehr kleinen Größe fast nie oder nur durch glücklichen Zufall gesehen werden, wenn er nämlich der ganzen Länge nach auf dem Schnitt liegt und nicht quer durchschnitten ist.« Es ist schwer verständlich, daß PETRUNKEWITSCH diese langen, noch aus Kopf und Schwanzfaden bestehenden Samenfäden ganz übersehen hat, zumal, da selten weniger als drei in jedem Ei vorhanden sind. Es ist wohl so zu erklären, daß er, wie auch aus der von ihm gegebenen Tabelle ersichtlich ist, sein Augenmerk vornehmlich auf die Drohneneier gerichtet hat, auf deren Untersuchung es ihm ja vor allem ankam. Eier aus Arbeiterinnenzellen, in denen noch keine Spermastrahlung aufgetreten war, hat er, wie ebenfalls seine Tabelle zeigt, überhaupt nur 21 untersucht. Daß er ganz junge Eier nicht untersuchte, geht auch daraus hervor, daß er das von mir in Fig. 1 abgebildete Stadium nicht beobachtet hat. In seiner Fig. 13 gibt er allerdings eine Richtungsspindel wieder, die ich für ein entsprechendes Stadium halten möchte, aber dieses Ei stammte aus einer Drohnenzelle.

An eben in die Eier eingedrungenen Spermatozoen sind, wie gesagt, Kopf und Schwanz noch deutlich zu unterscheiden. Bei dem in Fig. 12 dargestellten Spermatozoon ist der Kopf noch fast unverändert. Der

Schwanzfaden ist nicht so lang wie der der Spermatozoen, welche sich noch in der Samenblase der Königin befinden. Es ist also möglich, daß nur ein Teil des Schwanzfadens in das Ei eindringt; möglich wäre aber auch, daß der Schwanzfaden sich im Ei stark kontrahiert, ja diese Annahme halte ich für die wahrscheinlichere, da die Schwanzfäden der bereits in die Eier eingedrungenen Spermatozoen viel dicker erscheinen als die der noch im Receptaculum seminis befindlichen. Während die Spermatozoen immer tiefer in den Dotter eindringen, verändern sie sehr schnell ihr Aussehen. Zunächst quillt der Kopf auf und häufig zeigt er sich dann spiralig gedreht (Fig. 13), man sieht geradezu, wie er sich langsam durch die ihn umgebenden Dotterschollen hindurchschraubt. Daß von den Spermatozoen eine anziehende Wirkung auf das Plasma ausgeübt wird, wird ebenfalls sehr bald sichtbar. Von allen Seiten fließt das Plasma heran und umgibt den Samenfaden, es entwickelt sich die Spermastrahlung (Fig. 14). Der Schwanzfaden degeneriert jetzt sehr schnell, in Fig. 16 sieht man nur noch schwache Spuren von ihm. Das im Kopfe zusammengedrängte Chromatin lockert sich immer mehr auf und zeigt die Tendenz, sich hantelförmig an den beiden Enden des Kopfes anzusammeln (Fig. 14, 15), so daß man vermuten könnte, es erfolge eine Scheidung in zwei Gruppen. Eine vollkommene Trennung findet indessen nie statt, sondern früher oder später vereinigt sich das Chromatin wieder und bildet dann einen großen Ballen, der innerhalb einer mächtigen Strahlung, aber immer exzentrisch liegt (Fig. 16). Den Umfang einer solchen Strahlung — der Höhepunkt wird ungefähr zur Zeit der zweiten Reifungsteilung erreicht — gibt die Fig. 17 bei schwächerer Vergrößerung wieder: es liegen hier zwei Strahlungen auf einem Schnitt.

Die Umbildung des aus dem Spermakopf hervorgegangenen Chromatinballens in den männlichen Vorkern erfolgt ungefähr zu der gleichen Zeit, wo auch der weibliche Vorkern entsteht. Beide Vorkerne sind zunächst sehr klein, wachsen aber dann sehr schnell zu einer beträchtlichen Größe heran. Sobald der weibliche Vorkern gebildet ist, verläßt er das Richtungsplasma und wandert ins Innere des Eies. Hier trifft er auf einen der männlichen Vorkerne, mit dem er dann kopuliert (Fig. 18). Meist erfolgt die Kopulation ganz in der Nähe des Richtungsplasmas (Fig. 19). Daß der weibliche Pronucleus dem männlichen so weit entgegenwandert, wie es Petrunkewitsch in seinem Schema (1901, S. 889) darstellt, dürfte nur ganz ausnahmsweise vorkommen, vielleicht dann, wenn zufällig einmal nur ein Spermatozoon in das Ei eingedrungen ist. Dort, wo die Kopulation stattfindet, erfolgt auch die Umbildung zur ersten Furchungsspindel.

Im Drohnenei verläßt der gereifte Eikern ebenfalls das Richtungsplasma und wandert ins Eiinnere. Da aber das Ei unbefruchtet abgelegt worden ist, trifft er nicht mit einem männlichen Vorkern zusammen. Er wandert quer durch das ganze Ei und gelangt schließlich bis zum Rand der konkaven Seite des Eies (Fig. 20). Erst hier — man möchte sagen: nach dieser vergeblichen Suche nach einem männlichen Vorkern — bildet er sich zur ersten Furchungsspindel um. Diese Wanderung des weiblichen Vorkernes im unbefruchteten Ei findet regelmäßig statt, und die Lage der ersten Furchungsspindel im unbefruchteten Ei einerseits, im befruchteten anderseits ist so charakteristisch, daß man, wenn man auf diesem Stadium befindliche Eier vor sich hat, schon allein hiernach beurteilen kann, ob man es mit Drohnen- oder Arbeiterinneneiern zu tun hat.

d) Physiologische Polyspermie bei der Honigbiene.

Noch habe ich einiges über die Polyspermie nachzutragen. Bereits Blochmann (1889) fand, daß die Arbeiterinneneier häufig polysperm befruchtet werden, und dieselbe Beobachtung machte auch Petrunkewitsch (1901). Normale oder physiologische Polyspermie ist ja überhaupt bei Insekten schon häufig beobachtet worden, und auch in andern Klassen von Evertebraten und Vertebraten ist sie nicht selten oder gar die Regel. Meine Untersuchungen haben ergeben, daß auch bei der Honigbiene fast alle in Arbeiterinnenzellen abgesetzten Eier polysperm befruchtet sind. Die Zahl der in ein Ei eindringenden Spermatozoen schwankt zwischen drei und sieben. Nur in wenigen Fällen habe ich weniger als drei und ebenso selten mehr als sieben feststellen können; die Höchstzahl, die ich beobachtet habe, ist zehn. Diese Zahl dürfte ungefähr der Höchstzahl, welche überhaupt vorkommt, entsprechen; denn nach den schönen Untersuchungen Adams über »Bau und Mechanismus des Receptaculum seminis bei den Bienen, Wespen und Ameisen« (1912) werden, so oft die »Spermapumpe« in Funktion tritt, »höchstens zehn bis zwölf Spermatozoen« durch den Samenblasengang zur Scheide befördert. Und da die zu befruchtenden Eier noch durch eine besondere Vorrichtung, die Eileiterklappe, mit dem Ende, an welchem sich die Mikropylen befinden, an die Mündung des Samenblasenganges gedrückt werden, so ist es wahrscheinlich, daß die in den Eiern gefundene Spermatozoenzahl gewöhnlich der von der Spermapumpe gelieferten entspricht.

Henking (1892) gibt für eine Reihe von Insekten, bei denen er Polyspermie beobachtet hat, an, daß die meisten Spermatozoen nicht bis in das Innere des Dotters vordringen, sondern im Randplasma des Mikro-

pylenpoles zugrunde gehen. Diese Angabe kann ich für die Honigbiene nicht bestätigen. Ich fand nie Samenfäden oder Überreste von ihnen im Keimhautblastem; alle gelangen in den Dotter, wo sie die Umbildung in männliche Vorkerne unter Erzeugung einer Spermastrahlung beginnen. Rückert, der als erster die physiologische Polyspermie — und zwar bei Selachiern — beobachtet hat (1891), vertritt die Auffassung, daß die Spermakerne sich gegenseitig abstoßen und folgert: »Wenn die Spermakerne sich abstoßen, so wird bei der Konkurrenz um den Besitz des Eikerns der diesem letzteren zufällig, d. h. infolge frühzeitigeren oder örtlich günstigeren Eindringens, am meisten genäherte Spermakern seine Genossen in Entfernung vom Eikern halten, und infolgedessen als einziger Spermakern mit diesem kopulieren. Damit war die wichtigste Erscheinung der Befruchtung des physiologisch polyspermen Eies erklärt: die monosperme Kopulation der Vorkerne« (1899, 1910). Auch bei der Honigbiene kommt es nie vor, daß zwei Spermakerne sehr nahe beieinanderliegen oder etwa gar eine einheitliche Strahlung erzeugen. Sobald die Spermatozoen durch die Mikropylen in das Ei eingedrungen sind, breiten sie sich in dem vorderen Drittel des Eies aus, und wenn man auch bisweilen (Fig. 17) mehrere Strahlungen auf einem Schnitt findet, so habe ich doch nie beobachtet, daß diese Strahlungen einander auch nur berühren. Wenn auch deutliche »Spermakernstraßen« bei unserem Objekt nicht zu sehen sind, die bei den Selachiern so schön das Abstoßungsvermögen der Spermatozoen demonstrieren, so glaube ich doch auf Grund der mitgeteilten Befunde behaupten zu dürfen, daß hier die Spermatozoen die gleiche Eigenschaft besitzen. Natürlich kopuliert auch bei der Honigbiene immer nur ein männlicher Vorkern mit dem weiblichen, und zwar der dem Richtungsplasma zunächstliegende. Wenn sich die erste Furchungsspindel ausbildet, wandeln sich die nicht zur Kopulation gelangten Spermakerne ebenfalls in Spindeln um. Die Teilung der Spermakernspindel — Fig. 25 gibt eine solche wieder — wird indessen nie durchgeführt. Von vornherein sieht man den Spindeln an, daß es degenerierende Gebilde sind. Von den Furchungsspindeln unterscheiden sie sich zunächst durch das Fehlen der Centrosomen und Centriolen. Durch die Vereinigung des einen Spermakernes mit dem Eikern scheinen diese — eine wirkliche Verschmelzung der beiden Vorkerne findet nicht statt — die Herrschaft über die übrigen Spermakerne zu gewinnen. »der Kampf zwischen den Kernen, der« — um ein Bild Rückerts zu gebrauchen — »früher mit gleichen Waffen geführt wurde, ist jetzt ein ungleicher.« Während im Verlauf der Eireifung die Spermastrahlung bei allen Spermakernen gleichstark entwickelt war, erschlaffen jetzt gewissermaßen bei

den übriggebliebenen die Kräfte, die Strahlung geht zurück und verschwindet in kurzer Zeit vollständig. Wenn sich die zweite Furchungsteilung vorbereitet — die Fig. 25 lieferte ein Ei, das sich auf diesem Stadium befand —, so findet man noch immer die Spermakernspindeln, aber die meisten sind über das Stadium der Äquatorialplatte nicht oder nur wenig hinausgekommen und nur noch von einer kleinen Plasmaansammlung umgeben. Die letzten Reste werden sehr bald vollkommen resorbiert. Damit ist wohl auch eine Vermutung hinfällig, die Goldschmidt vor einiger Zeit (1910) geäußert hat, übrigens auch selbst nicht mehr vertritt. Er erwog die Möglichkeit, daß die Polyspermie für die Geschlechtsbestimmung von Bedeutung sei: Ist zur Erzeugung von weiblichen Individuen ein Überschuß von Trophochromatin nötig, so kann dieser durch überzählige Spermatozoen dem Ei zugeführt werden. »Es würden also aus trophochromatisch ungenügenden Eiern, d. h. unbefruchteten oder normal, aber nur monosperm befruchteten, Drohnen entstehen und nur aus physiologisch polyspermen Weibchen.« Bei der Honigbiene dürfte den überzähligen Spermatozoen keine weitere Bedeutung zukommen[1]).

e) Dauer der Eireifung.

Die Dauer der Eireifung läßt sich natürlich nur ungefähr ermitteln. Meine Beobachtungen stimmen in diesem Punkte mit denen Petrunkewitschs überein, der angibt, daß das Stadium der ersten Furchungsspindel in 3—4 Stunden alten Eiern erreicht wird. Auf dem Stadium der ersten Richtungsspindel verweilen die Eier ziemlich lange, während die zweite Reifungsteilung sehr schnell abläuft. Die Befruchtung scheint auf die Schnelligkeit der Entwicklung keinen Einfluß zu haben. Nach Petrunkewitsch sollen indessen in den von Arbeiterinnen stammenden Eiern die Eireifungsprozesse viel langsamer ablaufen, eine Angabe, deren Richtigkeit er allerdings in seiner zweiten Arbeit selbst sehr in Zweifel zieht, da es sich herausstellte, daß die Zeitangaben Dickels, von dem das Material stammte, häufig ganz falsch waren. Die Zahl der von Arbeiterinnen abgesetzten Eier, welche mir zur Verfügung standen, war nicht groß genug, um diese Frage mit Sicherheit zu entscheiden, immerhin muß ich es für sehr unwahrscheinlich halten, daß der erwähnte Unterschied zwischen den Arbeiterinnen- und Königinnen-Drohneneiern besteht.

Noch einen andern Unterschied zwischen diesen beiden Sorten von Drohneneiern führt Petrunkewitsch an. In einigen Arbeiterinnen-

---

[1]) Montgomery (1908) hält es für möglich, daß bei *Theridium*, einer Spinne, bei der er normale Polyspermie beobachtete, "certain cells of the later blastoderm might descend from supernumerary sperm nuclei".

Drohneneiern fand er in der ersten Richtungsspindel die doppelte Chromosomenzahl, nämlich 32 statt 16. Die Arbeiterinnen-Drohneneier, welche ich untersuchte, unterscheiden sich, so weit sich die Chromosomenzahl überhaupt feststellen ließ, auch in diesem Punkte nicht von den Königinnen-Drohneneiern. Trotzdem möchte ich aus weiter unten zu besprechenden Gründen das Vorkommen der doppelten Chromosomenzahl sehr wohl für möglich halten. Eine dritte Besonderheit der Arbeiterinnen-Drohneneier sollte endlich noch die sein, daß in ihnen die Derivate der Richtungskörper zugrunde gehen, während sie ja in den Königinnen-Drohneneiern die Geschlechtszellen liefern sollen. Auch mit diesem Punkt werden wir uns späterhin noch näher beschäftigen.

Zum Schluß dieser Darstellung der Eireifungs- und Befruchtungsprozesse in den Bieneneiern sei noch erwähnt, daß ich in allen aus Arbeiterinnen- oder Weiselzellen stammenden bis zu 4 Stunden alten Eiern Spermatozoen bzw. männliche Vorkerne fand, niemals indessen in einem einer Drohnenzelle entnommenen Ei. Unter den etwa 1200 Eiern, die ich im ganzen untersuchte, waren ungefähr 200 aus Drohnenzellen stammende, die das Stadium der ersten Furchungsspindel noch nicht erreicht hatten. Die Umwandlung der Spermatozoen in männliche Vorkerne und die Kopulation der Pronuclei studierte ich an fast ebenso vielen Arbeiterinnen- und Königinneneiern.

Daß Petrunkewitsch einmal in einem einer Drohnenzelle entnommenen Ei Sperma fand, beweist nicht, daß gelegentlich auch aus befruchteten Eiern sich männliche Tiere entwickeln, sondern diese Tatsache findet ihre Erklärung darin, daß die Bienenkönigin sich bisweilen »irrt« und statt eines »Drohneneies« ein »Arbeiterinnenei« in eine Drohnenzelle legt oder umgekehrt. Besonders bei älteren Königinnen beobachtet man solche »Irrtümer« häufiger.

3. Das Schicksal der Richtungskörper.

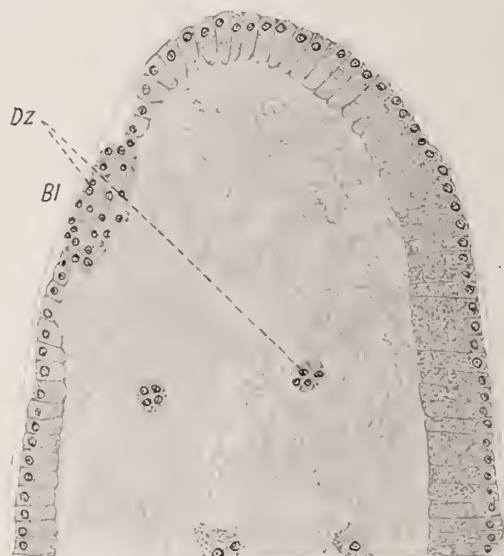
Verfolgen wir nunmehr das Schicksal der Richtungskörper in den verschiedenen Eiern. Das letzte Stadium, das wir betrachtet haben, war das in Fig. 11 wiedergegebene. Ein ähnliches Stadium zeigt Fig. 21. Der zweite Richtungskörper und die centrale Hälfte des ersten haben sich einander weiter genähert und sind nur noch durch die beschriebene dichtere Plasmaansammlung voneinander getrennt. Die periphere Hälfte des ersten Richtungskörpers hat ihre ursprüngliche Lage nicht verändert; sie wird in kurzer Zeit in allen Eiern resorbiert. In Fig. 22 ist der zweite Richtungskörper mit der centralen Hälfte des ersten verschmolzen, es ist der »Richtungskopulationskern« Petrunkewitschs entstanden, der

16 Chromosomen enthält. Gegenüber PETRUNKEWITSCH muß ich indessen nachdrücklich betonen, daß von einem »Kern« eigentlich gar nicht die Rede sein kann. Denn ebensowenig wie vorher die beiden Chromatingruppen sich in Kernbläschen umgewandelt haben, tun sie das nach ihrer Verschmelzung. In diesem Verhalten sehe ich das erste Anzeichen dafür, daß auch diese Produkte der Reifungsteilungen Abfallstoffe sind, die zwar noch einige »Lebenskraft« in sich tragen, denen aber eine weitere Bedeutung ebensowenig zukommt wie den überzähligen Spermakernen. Die weiteren Befunde beweisen die Berechtigung dieser Ansicht. Ungefähr zu derselben Zeit, wo sich die erste Furchungsspindel ausbildet, wandelt sich auch der »Richtungskopulationskern« in eine Spindel um (Fig. 23). Die im Verlaufe der Teilung des zweiten Richtungskörpers entstandene Plasmaverdichtung sowie der helle Hof sind inzwischen fast vollständig verschwunden, die Plasmakörnchen haben sich wieder gleichmäßig verteilt. Die Lage der Spindel des »Richtungskopulationskernes« welchselt sehr; bald liegt sie senkrecht zur Eioberfläche, bald parallel, bald mehr oder weniger schräg zu ihr. Ebenso wie bei den Spindeln der überzähligen Spermakerne fehlen auch bei ihr im Gegensatze zu den Furchungsspindeln Centrosomen und Centriolen sowie jegliche Plasmastrahlung. Besonders auffallend ist die Größe der Spindel. Zur Bildung einer regelrechten Äquatorialplatte kommt es nie, sondern die Chromosomen liegen in der Metaphase unregelmäßig über den mittleren Teil der Spindel verstreut (Fig. 24). Ihre Zahl beträgt — ich befinde mich mit dieser Angabe in Übereinstimmung mit PETRUNKEWITSCH — 32; in Fig. 24 ist sie deshalb etwas größer, weil einzelne Chromosomen sich offenbar bereits geteilt haben. Nach den vorausgegangenen Ausführungen hätten wir in der Äquatorialplatte eigentlich die Chromosomenzahl 16 erwartet, da ja der »Richtungskopulationskern« durch Verschmelzung von 8 + 8 Chromosomen entstanden ist. Das plötzliche Auftreten von 32 Chromosomen ist so zu erklären, daß die Chromosomen der Richtungsspindel »Sammelchromosomen« darstellen, die nach den Reifungsteilungen wieder in Chromosomen von niedrigerer Wertigkeit zerfallen, ein Vorgang, mit dem wir uns weiter unten noch eingehend beschäftigen werden.

Auch in der Anaphase bilden die Tochterchromosomen keine einheitlichen Platten, sondern liegen wie in der Metaphase sehr verstreut (Fig. 45). Ihre Zahl läßt sich in diesem Stadium nicht mehr feststellen, da meist mehrere Chromosomen mit einander verklebt sind. Auch ist die Verteilung der Chromosomen auf die beiden Polplatten gewöhnlich keine gleichmäßige. Vielleicht ist dies darauf zurückzuführen, daß einige

Chromosomen nicht mehr die Fähigkeit besitzen, sich zu teilen. »Ob die Teilungshälften dieser Spindel ruhende Tochterkerne geben«, schreibt PETRUNKEWITSCH, »konnte ich nicht feststellen«. In der Tat findet eine Bildung von Ruhekernen nicht statt, sondern wenn die Spindel zerrissen ist, liegen im Richtungsplasma zwei selbständige Tochterspindeln (Fig. 46), die noch mehr den Eindruck degenerierender Gebilde machen als die erste Spindel. Infolge der ungleichen Verteilung der Chromosomen ist die eine Spindel gewöhnlich kleiner als die andre. Auch in diesen

Textfig. 1.



Sagittalschnitt durch ein Bienenei, Blastodermstadium. *Bl* Blastoporus, *Dz* Dotterzellen. Nach O. DICKEL.

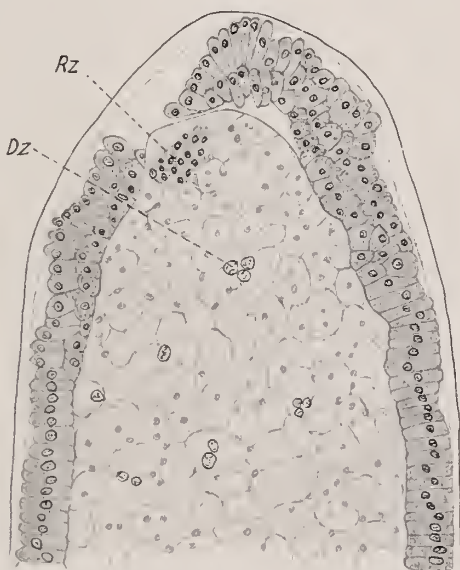
Spindeln kommt es nicht zur Ausbildung einer normalen Äquatorialplatte.

Das Stadium der Tochterspindeln wird meist erst erreicht, wenn die Furchung schon sehr weit fortgeschritten ist, ebenfalls ein Zeichen für die degenerative Natur dieser Gebilde. Häufig teilen sie sich noch weiter, so daß wir, wenn wir ein Ei untersuchen, dessen Furchungskerne im Begriff stehen, zur Blastodermbildung an die Peripherie zu wandern, bisweilen vier und mehr spindelähnliche Gebilde im Richtungsplasma finden. Fig. 47 zeigt die ungleichen Tochterspindeln in der Anaphase. Wenn die Furchungskerne an der Peripherie anlangen, verdrängen sie das Richtungsplasma und mit ihm die Derivate der Richtungskörper, die dann schließlich unter dem Blastoderm liegen (Fig. 48). Meistens

sind jetzt nur noch schwache Spuren in Form von mehr oder weniger großen Chromatinkörnchen sichtbar, die mitunter an die von PETRUNKEWITSCH beschriebenen »doppelten Kerne« erinnern. Auf den weiter fortgeschrittenen Stadien der Blastodermbildung sind indessen auch diese letzten Spuren der Derivate der Richtungskörper verschwunden, mögen nun die Eier aus Drohnen-, Arbeiterinnen- oder Weiselzellen stammen.

Wenn PETRUNKEWITSCH angibt, daß »in befruchteten Eiern sowie

Textfig. 2.



Sagittalschnitt durch ein Drohnenei, Blastodermstadium. *Dz* Dotterzellen, *Rz* Zellen, die vom Richtungskopulationskern stammen. — Nach PETRUNKEWITSCH.

in Arbeitsdrohneneiern der Richtungskopulationskern sich zu einer Spindel umbildet, diese aber einfach zugrunde geht oder eine bis vier Zellen liefert, die aber immer Zerfallserscheinungen des Chromatins aufweisen und schließlich auch zugrunde gehen«, so kann ich die Richtigkeit dieser Angaben völlig bestätigen. Wenn er aber weiter angibt, daß »im Drohnenei aus diesem Richtungskopulationskern durch dreifache Teilung acht Zellen mit doppelten Kernen entstehen«, die schließlich die Geschlechtszellen der männlichen Tiere liefern, so hat er sich m. E. durch eine vorgefaßte Meinung — eine »Laboratoriumshypothese«, wie WHEELER (1904) sagt — verleiten lassen, etwas zu sehen, was in Wirklichkeit gar nicht vor-

handen ist. "Even in his first paper", schreibt WHEELER sicher mit Recht, "there is no satisfactory evidence to show that the cells regarded as derivatives of the polar bodies in the figures on plate 4 are really such, and not dividing cleavage cells or possibly vitellophags . . . When we take up the second paper we wonder how anybody could regard the figures there presented as even an adumbration of proof that the testes of the drone are developed from the polar bodies[1])."

Und nun möge auch noch der Beweis folgen, daß tatsächlich die von PETRUNKEWITSCH in seiner zweiten Arbeit als »*Rz*-Zellen« bezeichneten Gebilde keine Abkömmlinge der Richtungskörper sind. Diesen Beweis hat bereits kurz nach Erscheinen der Arbeit PETRUNKEWITSCHS O. DICKEL (1904) in seinen »Entwicklungsgeschichtlichen Studien am Bienenei« erbracht. Da er aber an keiner Stelle seiner Arbeit hierauf aufmerksam macht, so wird man annehmen müssen, daß er sich dieser Feststellung gar nicht bewußt geworden ist.

Textfig. 1 ist der Arbeit von O. DICKEL entnommen und gibt einen Sagittalschnitt durch ein Ei wieder, das sich auf dem Blastodermstadium befindet. Auf der linken Seite sehen wir den Blastoporus (*Bl*), an dem sich ein Dotterzellensyncytium (*Dz*) angelagert hat. Außerdem liegen im Dotter zahlreiche weitere Gruppen von Dotterzellen (*Dz*). Und nun vergleiche man damit die Textfig. 2, die aus der Arbeit von PETRUNKEWITSCH stammt! Das abgebildete Ei befindet sich nahezu auf dem gleichen Stadium wie das von O. DICKEL wiedergegebene. Außen sehen wir wieder das einschichtige Blastoderm und oben links den Blastoporus, im Innern zahlreiche Gruppen von Dotterzellen (*Dz*) und am Blastoporus wieder jenes Zellensyncytium (*Rz*). Nach PETRUNKEWITSCH sind aber diese Zellen keine Dotterzellen, sondern es sind eben jene »*Rz*-Zellen«, die Abkömmlinge des »Richtungskopulationskernes«, die zukünftigen Geschlechtszellen. Ich habe die Bildung der Dotterzellen und ihr Verhalten bis zu diesem Stadium genau verfolgt — bei Beschreibung der Furchung und Blastodermbildung werde ich näher hierauf eingehen —, und ich muß O. DICKEL vollkommen Recht geben: Die im Blastodermstadium am Blastoporus liegenden Syncytien sind Dotterzellen, stehen also zu den Richtungskörpern in keiner Beziehung. Sie finden sich in den befruchteten und unbefruchteten Eiern in gleicher Weise, nicht, wie PETRUNKEWITSCH angegeben hat, nur in den letzteren.

---

[1]) Von mir gesperrt. H.N.

4. Furchung und Blastodermbildung.

a) Die Chromosomenzahl in den Furchungsspindeln der unbefruchteten und der befruchteten Eier.

Den gereiften Eikern haben wir im befruchteten Ei bis zu seiner Kopulation mit einem männlichen Vorkerne, im unbefruchteten auf seiner Wanderung bis zum konkaven Eirande verfolgt. Es interessiert uns nun zunächst, wie sich bei der Furchung im unbefruchteten Ei die Chromosomen verhalten. Ist es tatsächlich so, wie Petrunkewitsch angegeben hat, d. h. verdoppeln sich im Drohnenei die Chromosomen, so daß auch hier die Furchungskerne die normale Chromosomenzahl — 16 — enthalten? Fig. 29 zeigt uns die Äquatorialplatte einer Furchungsspindel im unbefruchteten Ei, und wir zählen in der Tat mehr als acht — etwa 16 — Chromosomen. Sicherer läßt sich die Zahl feststellen, wenn man eine quergeschnittene Spindel vor sich hat, in der die Polplatten bereits gebildet sind und auf zwei aufeinanderfolgenden Schnitten liegen, wie in Fig. 30 *a* und *b*. Jede Polplatte enthält hier 16 ungefähr gleich große Chromosomen. Es findet also in der Tat eine Verdoppelung der Chromosomenzahl statt.

Nach Petrunkewitsch — und das ist ja zunächst auch das Wahrscheinlichste — besitzen die Furchungskerne der befruchteten Eier ebenfalls die »normale« Chromosomenzahl 16. Dem ist indessen nicht so, wie ein Blick auf die Figuren 34 und 36 lehrt. Im befruchteten Bienenei findet vielmehr ebenfalls eine Verdoppelung der Chromosomenzahl statt, so daß hier die Äquatorialplatte (Fig. 34) — und ebenso jede Polplatte (Fig. 36 *a* und *b*) — einer Furchungsspindel nicht 16, sondern 32 Chromosomen enthält. Die Chromosomen der Reifungsteilungen des Eies sind also »Sammelchromosomen«, die nach der Reifung wieder in Chromosomen von niedrigerer Wertigkeit zerfallen.

Die Chromosomen der Furchungsspindeln sind allerdings außerordentlich klein, und Spindeln, die ein einigermaßen sicheres Zählen der chromatischen Elemente erlauben, — in der Anaphase verklumpen die Chromosomen sehr bald und Bilder wie die Fig. 30 und 36 können nur ganz frühe Furchungsspindeln liefern —, sind sehr selten, und es sei zugegeben, daß man meist darüber streiten kann, ob z. B. eine Spindel 32 oder aber einige Chromosomen mehr oder weniger enthält. Ganz außer Frage steht indessen, daß in den Furchungsspindeln der unbefruchteten Eier die Chromosomenzahl beträchtlich größer als acht, in denen der befruchteten größer als 16 ist. Selbst wenn man Spindeln vor sich hat, die ein Zählen der Chromosomen nicht gestatten, so ist doch der Unter-

schied zwischen den beiden Spindeln kaum zu verkennen. Umso auffälliger ist es, daß PETRUNKEWITSCH ihn gar nicht bemerkt hat. Es findet diese Tatsache wohl wieder darin ihre Erklärung, daß für ihn die befruchteten Eier nicht das Interesse boten wie die unbefruchteten, in denen er ja die Verdoppelung nicht nur im Furchungskern, sondern in gleicher Weise auch im »Richtungskopulationskern« richtig beobachtet hat.

b) Kern- und Zellgröße in den befruchteten und den unbefruchteten Eiern.

Die Feststellung, daß die Furchungsspindeln der befruchteten Eier eine doppelt so große Chromosomenzahl besitzen wie die der unbefruchteten, legte es nahe, die Kernplasmarelation in den Arbeiterinnen- und Drohneneiern zu untersuchen und zu vergleichen. Bekanntlich hat BOVERI (1905) festgestellt, daß die Kerne künstlich zur Entwicklung gebrachter parthenogenetischer Seeigellarven (thely- sowie auch arrhenokaryotischer Larven), die nur die reduzierte Chromosomenzahl besitzen, kleiner sind als die Kerne normaler Larven (amphikaryotischer Larven), und die normaler Larven kleiner als Kerne, die die doppelte Normalzahl besitzen (diplokaryotische Larven). Die Messung ergab, daß »die Kernoberfläche der Chromosomenzahl direkt proportional ist«. Das Resultat meiner diesbezüglichen Untersuchung ist, um es gleich vorwegzunehmen, daß zwar ein Unterschied in der Größe der Kerne der Furchungszellen bei Drohnen und Arbeiterinnen besteht, der aber bei weitem nicht so deutlich hervortritt wie bei dem von BOVERI untersuchten Objekte. Keinesfalls kann von einem gesetzmäßigen Größenunterschied die Rede sein.

Daß die zu den Untersuchungen verwandten Drohnen- und Arbeiterinneneier sich auf dem gleichen Entwicklungsstadium befinden müssen, ist selbstverständlich, genügt aber nicht, sondern die zu vergleichenden Kerne müssen entweder ganz kurz vor oder ganz kurz hinter der Teilung stehen, da die Kerne ihre Größe zwischen zwei Teilungen sehr erheblich verändern. Wie beträchtlich die Größenzunahme eines eben gebildeten Kernes bis zur nächsten Teilung ist, mögen die Fig. 26 und 32 für das unbefruchtete, die Fig. 33 und 38 für das befruchtete Ei demonstrieren. Sie zeigen zugleich, daß ein kurz vor der Teilung stehender Furchungskern im Drohnenei (Fig. 26) viel größer ist als ein Furchungskern im Arbeiterinnenei, der eben aus einer Teilung hervorgegangen ist (Fig. 38). Daß das Wachstum des Chromatins nicht mit dem des Kernes gleichen Schritt hält, geht, wie mir scheint, einmal aus der Größe des Kernwachstums hervor und zweitens aus der Schnelligkeit, mit der es erfolgt. Da im

Furchungsstadium die Teilung der Blastomeren meist an dem vorderen Pol beginnt, und gegen den hinteren zu allmählich fortschreitet, findet man in einem Ei, das bereits eine größere Zahl Furchungskerne besitzt, meist alle möglichen Teilungsstadien. Hier zeigt sich nun, daß ein eben gebildeter Kern nicht langsam bis zu einer bestimmten Größe wieder heranwächst, sondern er vergrößert sich zunächst rapide, verlangsamt dann sein Wachstum sehr, um ganz allmählich seinen größten Umfang zu erreichen. So stehen die in den Fig. 38 und 39 abgebildeten Furchungskerne — sie entstammen demselben Ei und liegen fast nebeneinander — erst kurze Zeit hinter der Teilung, trotzdem sind die beiden Furchungskerne der Fig. 39 bereits beträchtlich größer als die der vorhergehenden. Man muß dieses rapide Kernwachstum wohl auf Kosten einer Flüssigkeitsaufnahme setzen. Das Chromatinwachstum aber erfolgt in der Hauptsache in der Periode des langsamen Kernwachstums. Man wird Boveri vollkommen Recht geben, wenn er schreibt: »Das Chromatin, wie es in Gestalt der neuentstandenen Tochterchromosomen einer Zelle zufällt, ist junges Chromatin, es wächst nun bis etwa zum doppelten Volumen heran; jetzt ist es ausgewachsen, d. h. zu weiterem Wachstum unfähig, aber reif zur Fortpflanzung, in Gestalt der sich teilenden Mutterchromosomen. Ohne dieses Heranwachsen gibt es keine Teilungsfähigkeit, ohne Teilung kein neues Wachstum«. Kein neues Wachstum des Chromatins — gewiß, aber damit ist nicht gesagt, daß der Kern nicht noch weiter zu wachsen vermöchte, ehe er sich wieder teilt. Ebensowenig wie sein schnelles Wachstum nach der Teilung durch das Wachstum des Chromatins hervorgerufen wird, ebensowenig hält ihn das »ausgewachsene« Chromatin in seinem weiteren Wachstum zurück oder zwingt ihn, sich zur Spindel umzuwandeln. Das Verhalten der Dotterzellen zeigt dies sehr schön.

Bekanntlich sind die Furchungszellen anfangs alle untereinander gleich; es existiert bei der Honigbiene auch kein sogenannter »Keimbahnkörper«, wie ihn Silvestri (1906, 1908) bei einigen parasitischen Hymenopteren fand. Erst wenn die Furchungszellen ihre Wanderung an die Peripherie beginnen — man vergleiche die Darstellung der Furchung und Blastodermbildung bei O. Dickel (1904) —, macht sich ein Unterschied zwischen diesen und einigen zurückbleibenden Zellen, den Dotterzellen, bemerkbar. »Zunächst unterscheiden sie sich«, schreibt O. Dickel, »kaum von den blastodermbildenden Zellen. Erst wenn diese bis ziemlich an die Peripherie vorgedrungen sind, macht sich ein beträchtlicher Größenunterschied bemerkbar . . . Diese Tatsache findet ihre Erklärung in der außerordentlichen Vermehrung der Furchungskerne.« Die Dotter-

kerne teilen sich in der Tat zunächst nicht, sondern wachsen bis zu einer enormen Größe heran (Fig. 44), enorm im Vergleich zu den Kernen der das Blastoderm bildenden Zellen, die bei weitem nicht mehr die Größe erreichen wie der in Fig. 40 wiedergegebene Furchungskern, welcher gerade die Wanderung an die Peripherie begonnen hat. Was an den Kernen der großen Dotterzellen auffällt, ist ihre Chromatinarmut. — Ein ganz ähnliches Verhalten der Dotterkerne beschreibt SALING (1907) für *Tenebrio molitor*. — Ganz besonders deutlich tritt diese Chromatinarmut hervor, wenn wir einen solchen Dotterkern (Fig. 44) mit einem ungefähr die gleiche Größe erreichenden frühen Furchungskern (Fig. 26) vergleichen. Das ist eben der wesentliche Unterschied zwischen diesen beiden Kernen, daß der letztere — ich möchte sagen normalerweise so groß wird, während der Dotterkern noch weiter wächst, wenn das Chromatin bereits ausgewachsen, also zur nächsten Teilung bereit ist.

Wenn wir nun aber zwei Kerne miteinander vergleichen, die sich, soweit das eben zu bestimmen möglich ist, tatsächlich auf dem gleichen Stadium befinden, etwa die der Fig. 26 und 33, so ist immerhin ein nicht unwesentlicher Unterschied in der Größe zwischen den beiden Furchungskernen bemerkbar. Es sei noch ausdrücklich hervorgehoben, daß ich nicht etwa einen besonders großen Furchungskern im befruchteten Ei und einen besonders kleinen im unbefruchteten herausgesucht habe, sondern der Unterschied in der Größe fiel mir erst auf, als ich sie bereits gezeichnet hatte. Auch die Kerne der Fig. 32 und 38 differieren in der Größe, ja man möchte fast, wenn man die Centriolen vergleicht, die Fig. 32 und 39 für gleiche Stadien halten.

Ein weiteres Gesetz von BOVERI besagt: »Die Größe der Larvenzellen ist eine Funktion der in ihnen enthaltenen Chromatinmenge, und zwar ist das Zellvolumen der Chromosomenzahl direkt proportional.« Auch dieses Gesetz läßt sich nicht ohne weiteres auf die Honigbiene anwenden. Bei Bildung der ersten Furchungsspindel ist zwar ein Unterschied in der Plasmamenge im befruchteteten und unbefruchteten Ei vorhanden (Fig. 19 u. 20), der darauf zurückzuführen ist, daß im befruchteten Ei der männliche Vorkern eine anziehende Wirkung auf das Plasma ausübt, die sich in der Bildung einer kräftigen Plasmastrahlung äußert. In den späteren Furchungsspindeln ist indessen ein deutlicher Unterschied in der Plasmamenge in den verschiedenen Eiern nicht mehr nachweisbar.

Aber ist es überhaupt verwunderlich, daß die BOVERIschen Gesetze für die Honigbiene keine Geltung haben? Die Untersuchungen von MARCUS (1906), ERDMANN (1909) und KÖHLER (1912) haben ergeben, daß auch für die Echinodermen die BOVERIschen Gesetze nur bei gleichen

Bedingungen gelten. Z. B. »hängt die Kernplasmarelation in hohem Maße von der Temperatur ab« (Köhler). Nun berechtigt ja zunächst nichts zu der Annahme, daß die Drohneneier sich unter andern äußeren Bedingungen befinden als die Arbeiterinneneier. Immerhin ist dies nicht als ausgeschlossen zu betrachten; man denke nur daran, daß die Drohnenzellen beträchtlich größer sind als die Arbeiterinnenzellen. Aber die äußeren Bedingungen sind meiner Ansicht nach hier nicht einmal das Wichtigste. Man darf vielmehr ein Bienenei überhaupt nicht ohne weiteres mit einem Seeigelei vergleichen. Das Insektenei mit seinen großen Mengen der verschiedensten Nährsubstanzen, wie Dotter, Fett, Glykogen, mit seiner ungleichen Verteilung des Protoplasmas und der mit all dem zusammenhängenden superfiziellen Furchung bietet ganz andre Verhältnisse dar als das total-äqual sich furchende Seeigelei.

c) Centrosomen- und Centriolenfrage.

Im Jahre 1906 glaubte Kostanecki als Endergebnis einer ausführlichen Abhandlung »über die Herkunft der Teilungscentren der ersten Furchungsspindel im befruchteten Ei« feststellen zu können, daß »im befruchteten Ei sämtlicher Metazoen die Centriolen der ersten Furchungsspindel die direkten Abkömmlinge des vom Spermatozoon eingeführten Centriols sind. Die von dieser Regel statuierten Ausnahmen erweisen sich bei genauerer Prüfung als unhaltbar. »Zahlreiche Untersuchungen der letzten Jahre — es sei hier besonders auf die Experimente und Beobachtungen Lillies (1912) hingewiesen — haben indessen die Richtigkeit dieser zuerst von Boveri (1887) vertretenen Ansicht Kostaneckis sehr in Frage gestellt, und ganz im Gegensatz zu diesem kommt Lillie (1912) zu dem Resultat: "on can say without fear of successful contradiction that in no animal has it been shown that the sperm aster arises around an extranuclear centrosome of spermatic origin." Ich möchte auf Grund meiner Untersuchungen ebenfalls der Ansicht Kostaneckis entgegentreten, wenn ich auch zugeben muß, daß ich den direkten Beweis dafür, daß die Centriolen der ersten Furchungsspindel im befruchteten Ei nicht vom Spermatozoon stammen, nicht erbringen kann.

Ich habe bereits hervorgehoben, daß in den Reifungsspindeln weder ein Centrosom, noch ein Centriol zu sehen ist. Während der Furchung sind indessen beide Gebilde im unbefruchteten Ei in gleicher Weise wie im befruchteten sehr leicht nachweisbar. Schleip (1908) fand bei den Ameisen in den Furchungsspindeln der unbefruchteten Eier niemals Centriolen; »diese treten aber an den Spindeln im Blastoderm und ihrem Keimstreif stets mit außerordentlicher Deutlichkeit hervor«. Centro-

somen fand er auch in diesen nicht, jedoch legt er auf diese Beobachtung keinen besonderen Wert und bemerkt ausdrücklich, daß eine speziell darauf gerichtete Untersuchung zu einem andern Resultat führen könnte. Gegenüber den Angaben von Schleip für die Ameisen sei besonders betont, daß bei der Honigbiene Centrosomen und Centriolen im unbefruchteten Ei nicht etwa auch erst in einem späten Furchungsstadium oder gar erst während der Blastodermbildung auftreten. Ich habe erste Furchungsspindeln in unbefruchteten sowie in befruchteten Eiern beobachtet, in denen die Centriolen sehr deutlich waren, und zwar unterschieden sich die in unbefruchteten Eiern von denen in befruchteten in keiner Weise. Die Herkunft der Centriolen der ersten Furchungsspindel konnte ich leider nicht feststellen. Während der Umbildung der Spermatozoen in männliche Vorkerne in den Arbeiterinneneiern läßt sich innerhalb der Strahlungen kein Centriol nachweisen, und auch auf dem Stadium der Kopulation der beiden Vorkerne sucht man vergeblich nach ihm. Bemerkenswert ist ferner die Tatsache, daß die Spindeln der überzähligen Spermakerne die Centriolen vermissen lassen. Man könnte vielleicht einwenden, daß durch das Zusammentreffen eines männlichen Vorkernes mit dem weiblichen die Centriolen der übrigen männlichen Vorkerne inaktiviert und infolgedessen nicht mehr sichtbar werden, während das Centriol des kopulierenden männlichen Vorkernes seine Aktivität bewahrt. Aber wie dem auch sei, die Beobachtungen an Drohneneiern zeigen immerhin, daß die Centrosomen und Centriolen auch ohne das Vorhandensein eines Spermatozoons ganz in der gleichen Weise auftreten können, und das legt zum mindesten die Vermutung nahe, daß auch die der befruchteten Eier nicht direkt vom Spermatozoon stammen. Eine Vermutung über die Herkunft dieser Gebilde und über die Ursachen, welche ihr Sichtbarwerden bedingen, auszusprechen, halte ich vorläufig für zwecklos und möchte mit Lillie sagen, "we can only assert our profound ignorance of what these causes really are".

d) Die Teilung eines Furchungskernes.

Das erste Anzeichen für die baldige Teilung eines Kernes ist das Auftreten des Centrosoms (Fig. 26 und 33). Dieses ist ein ungefähr kreisrundes, homogenes, mit Eosin stark sich färbendes Gebilde, das sehr scharf gegen das körnige Plasma abgesetzt ist. Die beiden Centrosomen des zur Teilung sich anschickenden Kernes liegen auf entgegengesetzten Seiten und besitzen in ihrer Mitte je ein Centriol. Das Chromatin zeigt zunächst noch keinerlei Veränderung. Sehr bald aber bildet es

sich zu einem feinen Spirem um, und zugleich werden im Kern Spindelfasern sichtbar, die von Centrosom zu Centrosom verlaufen (Fig. 27). Das Spirem wird nun immer mehr in den Bereich der Spindel gezogen und verkürzt sich dabei zusehends, es differenzieren sich die einzelnen Chromosomen heraus (Fig. 28). Die Kernmembran ist bis zu diesem Stadium meist noch vollkommen intakt — daß sie bereits auf dem Stadium der Fig. 27, wie dort, sich auflöst, findet man selten —; jetzt verschwindet sie jedoch fast plötzlich, so daß dann die Spindel frei im Plasma liegt. Der durch Auflösung der Kernmembran dem Plasma zugänglich gewordene Kernraum wird von diesem ausgefüllt, indem sich die Körnchen in ihm ausbreiten. Da das Plasma erst allmählich hier seine gewöhnliche Dichte erlangt, sieht man zunächst noch einen etwas helleren Hof um die Spindel.

Die Centrosomen haben inzwischen große Umwandlungen durchgemacht. Den Höhepunkt ihrer Entwicklung erreichen sie bereits vor Ausbildung des Spirems (Fig. 26 und 33). Während sich die Spindel bildet, nimmt die Größe der Centrosomen langsam ab, eine Tatsache, die entschieden zugunsten der Ansicht spricht, daß die Spindel ihre Entstehung den Centrosomen verdankt. Wenn die Chromosomen sich in der Mitte der Spindel angeordnet haben, wenn also die Spindelbildung ihren Endpunkt erreicht hat (Fig. 29 und 34), sind die Centrosomen nahezu vollständig verschwunden. Die Centriolen hingegen sind jederzeit sehr gut nachweisbar; in der Metaphase (Fig. 29 und 34) haben sie sich bereits geteilt. In diesem Stadium beginnt sich auch eine Plasmastrahlung zu entwickeln.

Die Spaltung der Mutterchromosomen in die Tochterchromosomen erfolgt nicht in der ganzen Äquatorialplatte gleichzeitig, sondern beginnt in der Mitte. Wenn die am Rande der Äquatorialplatte liegenden Chromosomen sich spalten, sind die Tochterchromosomen in der Mitte bereits ein wenig auseinandergewichen. Zu Beginn der Anaphase geben die Chromosomen immer ein sehr charakteristisches Bild, das Bild einer bikonvexen Scheibe. Ich habe dieses Stadium in Fig. 35 wiederzugeben versucht. In der Metaphase haben alle Chromosomen mehr oder weniger kugelige Gestalt. Wenn sie aber in der Anaphase an die Pole der Spindel gezogen werden, nehmen sie die Form kurzer Stäbchen an, indem sie sich ein wenig in die Länge ziehen; ihre Längsachse liegt dann immer in der Richtung der Spindelfasern. Sehr schnell lockern sie sich nun weiter auf und verschmelzen miteinander. Wenn sie an den Polen der Spindel anlangen, läßt sich daher ihre Zahl nicht mehr feststellen. Auch jetzt noch eilen die mittleren Chromosomen den übrigen voraus (Fig. 31 und 37).

In der Mitte der Spindel entsteht in der Anaphase regelmäßig eine Zellplatte (Fig. 31 und 37), deren Überreste noch zu sehen sind, wenn die Teilung des Kernes bereits vollendet ist (Fig. 32, 38, 39). Erst in diesem Stadium erreicht die Plasmastrahlung ihren Höhepunkt. Sie ist zwar auch in der Anaphase schon recht kräftig, aber wenn die Ruhekerne bereits wieder ausgebildet sind, reichen die Strahlen durch die ganze Zelle, und dort, wo sich die Zelle durchschnürt, berühren sich die Strahlen der beiden Centren. Während die neu gebildeten Kerne sehr schnell an Größe zunehmen, rücken die geteilten Centriolen auseinander, anfangs noch durch eine deutliche Centrodesmose (Fig. 32, 38, 39) miteinander verbunden. Sie trennen sich schließlich vollständig, um sich auf entgegengesetzten Seiten des Kernes aufzustellen. Die Centriolen sind also immer vorhanden, allerdings nicht immer leicht nachweisbar, da sie häufig dem Kern dicht anliegen und dann leicht mit Chromatinkörnchen verwechselt werden können. Treten nun schließlich um die Centriolen wieder die Centrosomen auf, so haben wir wieder das Stadium erreicht, das der Anlage der Spindel, also der Teilung, voraufgeht.

Die Teilungen verlaufen in den unbefruchteten Eiern in gleicher Weise wie in den befruchteten, nur sind in den letzteren die Spindeln in der Regel etwas breiter (Fig. 34), was auf die größere Chromosomenzahl zurückzuführen ist. Daß auch gewisse Größenunterschiede zwischen den Kernen vorhanden sind, habe ich bereits hervorgehoben.

Die Fig. 40—43 geben die Teilung eines Furchungskernes im unbefruchteten Ei wieder, der im Begriffe steht, zur Blastodermbildung an die Peripherie zu wandern. Abgesehen davon, daß die Kerne und Spindeln kleiner geworden sind, ist der Teilungsmodus ganz der gleiche geblieben wie bei den frühen Furchungsspindeln. Die Chromosomenzahl hat sich ebenfalls nicht verändert: die Äquatorialplatte enthält etwa 16 Chromosomen (Fig. 41). Dasselbe gilt für das befruchtete Ei; hier beträgt also die Chromosomenzahl wie früher 32.

e) Das Verhalten der Dotterzellen.

Über die Bildung der Dotterkerne auf diesem Stadium habe ich schon früher gesprochen. Es sei hier noch einiges über ihr weiteres Verhalten gesagt. Schon O. Dickel betonte, daß »die Kernteilungen stets auf karyokinetischem Wege erfolgen«. Ich kann diese Angabe bestätigen. Wenn sich das Blastoderm ausgebildet hat — man vergleiche die Textfig. 1 und 2 —, findet man im Innern zahlreiche Dotterzellen, häufig zu mehreren in Gruppen beisammen. Solche Zellgruppen, in denen von Zellgrenzen nichts zu sehen ist und die Kerne sehr zahlreich sind im

Verhältnis zum Plasma, legen allerdings die Vermutung nahe, daß die Kerne sich amitotisch vermehren. Ich fand indessen auch solche Zellgruppen bzw. deren Kerne in mitotischer Teilung, und zwar teilten sich alle Kerne zu gleicher Zeit, so daß in dem Syncytium mehrere regelrechte Spindeln lagen. Das Plasma der Dotterzellen zeigt vielfach die Tendenz, pseudopodienartige Fortsätze zu bilden, und in dem in den Textfig. 1 und 2 wiedergegebenen Stadium findet man nicht selten Dotterzellen, deren gesamtes Plasma in feinste Pseudopodien ausgezogen ist, die von dem in der Mitte liegenden Kern nach allen Seiten ausstrahlen. Solche Dotterzellen stehen offenbar auf dem Höhepunkt ihrer Funktion. Auf etwas späteren Stadien liegen ihre Kerne fast nackt im Dotter, ihr Plasma ist nahezu vollständig — ich möchte sagen verbraucht worden. Diese Dotterzellen haben damit ihre Aufgabe erfüllt, die übriggebliebenen Kerne verfallen der Degeneration. Die Dotterzellen scheinen indessen nicht alle an der Resorption des Dotters beteiligt zu sein, speziell die größeren Gruppen zeigen die obigen Veränderungen nicht. Sie sammeln sich größtenteils am Blastoporus an und bilden dann hier das von O. Dickel eingehend beschriebene große Syncytium, Petrunkewitschs »*Rz*-Zellen«. Nach O. Dickel beteiligen sich diese Zellen aller Wahrscheinlichkeit nach späterhin am Aufbau des Entoderms.

f) Die Chromosomenzahl in den Blastodermspindeln der unbefruchteten und der befruchteten Eier.

Das Studium der Blastodermmitosen, besonders die Feststellung der Chromosomenzahl, ist mit noch größeren Schwierigkeiten verbunden als in den früheren Stadien. Immerhin besitze ich eine Anzahl Präparate, die auch für dieses Stadium die Frage mit Sicherheit zu entscheiden gestatten, ob im Drohnenei die Blastodermspindeln 16 oder 32 oder gar 64 Chromosomen enthalten. In den Fig. 52 *a* und *b* habe ich die Polplatten einer Blastodermspindel eines Drohneneies abgebildet; in jeder Polplatte liegen ungefähr 16 Chromosomen. Es hat also keine weitere Vermehrung der Chromosomen stattgefunden. Auch im übrigen gleichen die Mitosen (Fig. 49—54) wieder vollständig den früheren. Fig. 54, das letzte Stadium der Teilung, die Durchschnürung der Zelle, zeigt besonders schön die Ausdehnung der Plasmastrahlen und legt die Annahme nahe, daß diese mit der Durchschnürung des Plasmas in engem Zusammenhange stehen.

Wie kam nun Petrunkewitsch zu der Angabe, daß gegen Ende der Furchung, also zu Beginn der Blastodermbildung, die Chromosomen weiter zerfallen und die Blastodermspindeln im unbefruchteten Ei 64 Chro-

mosomen enthalten? Selbst wenn man annehmen wollte, seine in Fig. 17 (1901) wiedergegebene Äquatorialplatte sei in Wirklichkeit keine solche, sondern es seien bereits die Tochterchromosomen, er habe also alle Chromosomen doppelt gezählt, könnten es nur 32 sein. Ich weiß nicht, wie viele Präparate Petrunkewitsch vorlagen, die eine einigermaßen sichere Feststellung der Chromosomenzahl in den Blastodermspindeln gestatteten, nach allen seinen Angaben und meinen Beobachtungen über die Schwierigkeit dieser Feststellung möchte ich indessen annehmen, daß es nur sehr wenige waren. Da man — trotz seiner zum genauen Zählen der Chromosomen nicht gerade sehr geeigneten Färbungsmethode — kaum glauben kann, daß er in dem Präparat, nach dem die Fig. 17 gezeichnet wurde, irrtümlicherweise statt 16 64 Chromosomen gezählt hat, so bleibt nur die Annahme übrig, daß bisweilen die Chromosomenzahl durch einen weiteren Zerfall der Chromosomen vergrößert werden kann, eine Annahme, die an Wahrscheinlichkeit gewinnt durch die Tatsache, daß auch Meves (1907) so hohe Chromosomenzahlen in den Follikelzellen des Hodens gefunden hat. »Ich schließe daraus«, schreibt Meves, »daß im Lauf der Entwicklung die 16 Chromosomen des Drohneneies in den somatischen Zellen jedes in vier, die 32 Chromosomen dagegen, die nach meiner Annahme im befruchteten Ei vorhanden sind, jedes in zwei zerlegt werden.« Vielleicht zeigen auch die verschiedenen Bienenrassen in diesem Punkte ein verschiedenes Verhalten.

Auch in den Eiern aus Arbeiterinnenzellen konstatierte ich in den Blastodermspindeln die gleiche Chromosomenzahl wie in allen Furchungsspindeln, also 32. Fig. 55 gibt eine Blastodermspindel aus einem befruchteten Ei im Stadium der Äquatorialplatte wieder.

5. Die Spermatocytenteilungen.

Die Spermatocytenteilungen bei der Honigbiene haben durch Meves (1904, 1907) eine so ausgezeichnete und eingehende Beschreibung erfahren, daß es unnötig ist, hier auf Einzelheiten näher einzugehen; wir wollen uns vielmehr lediglich mit der Chromosomenzahl in den Reifungsspindeln im Hoden beschäftigen. Selbst dies könnte überflüssig erscheinen, da auch hierüber Meves genaue Angaben gemacht hat. Da jedoch auch Angaben über die Chromosomenzahl in den Spermatocytenteilungen existieren, die mit denen von Meves nicht vollkommen harmonieren, so schien es mir gut, mich an der Hand von eignen Präparaten über diese Frage zu orientieren und nachzuprüfen, ob wirklich in der Spermatogenese keine Bildung von Sammelchromosomen erfolgt. Die Untersuchungen wurden an Schnitt- und Ausstrichpräparaten durchgeführt.

In seiner ersten Mitteilung über die »Richtungskörperbildung im Hoden von Hymenopteren« (1904) hatte MEVES angegeben, daß in der Äquatorialplatte der zweiten Spermatocytenteilung 16 Chromosomen auftreten. MARK and COPELAND (1906) stimmen in diesem Punkte mit MEVES vollkommen überein. Nicht so DONCASTER, der in seiner ersten Mitteilung (1906 b) angab, daß in jede Spermatide nur acht Chromosomen kommen, eine Angabe, die er allerdings im folgenden Jahre (1907 b) dahin berichtigte, daß die acht Chromosomen der Polplatten der zweiten Reifungsteilung in Wirklichkeit Doppelchromosomen sind, daß also in jede Spermatide 16 Chromosomen kommen, von denen immer zwei sehr nahe beieinander liegen. Demgegenüber betont MEVES in seiner ausführlichen Arbeit (1907), daß »nicht acht zweiteilige Chromosomen (Dyaden) oder acht Paare von Tochterchromosomen vorhanden sind, sondern deren 16. Als (selbständige) Chromosomen zähle auch ich die Tochterchromosomen erst dann, wenn sie vollkommen voneinander getrennt, auf ihre Tochterzellen verteilt sind«.

Textfig. 3.

Textfig. 4.

Textfig. 5.



Zweite Spermatocytenteilung bei der Honigbiene, Anaphase. — Fig. 3 nach DONCASTER, Fig. 4 nach MARK and COPELAND, Fig. 5 nach MEVES.

Daß indessen die Feststellung der Chromosomenzahl in der Anaphase der zweiten Reifungsteilung nicht gerade leicht ist, zeigt ein Blick auf die betreffenden Abbildungen der genannten Autoren, die in den Textfig. 3—5 wiedergegeben sind. DONCASTER (Textfig. 3) zeichnet ungefähr acht Chromosomen in jeder Polplatte. In der von MARK and COPELAND stammenden Abbildung (Textfig. 4) ist ein Zählen der Chromosomen überhaupt nicht mehr möglich. MEVES gibt in seiner Abbildung (Textfig. 5) in jeder Polplatte zwar mehr als acht Chromosomen wieder, aber die Zahl 16 wird weder in der einen noch in der andern erreicht, und

es ist auffällig, daß auch keine seiner übrigen Figuren die von ihm angegebene Chromosomenzahl 16 zeigt; meist sind es sogar beträchtlich weniger.

Sehen wir uns nun die Chromosomen in den Spermatocytenteilungen an eignen Präparaten an, und zwar an Hoden-Ausstrichpräparaten, die den Einwurf unmöglich machen, daß die Spindel angeschnitten ist und also nicht alle Chromosomen auf einem Schnitt liegen[1]).

Kurz vor dem Beginn der ersten Spermatocytenteilung sieht man im Kern deutlich 16 Doppelchromosomen (Fig. 56). Während der ersten Spermatocytenteilung, der Abschnürung der Cytoplasmaknospe, lassen sich die Chromosomen nur selten genau zählen, da die Kernmembran nicht aufgelöst wird und die chromatischen Elemente meist dicht gedrängt in dem spindelförmig in die Länge gezogenen Kern liegen (Fig. 57). Ist aber ein einigermaßen sicheres Zählen möglich, so findet man auch hier 16 Doppelchromosomen. Günstiger liegen die Verhältnisse während der zweiten Spermatocytenteilung. Hier bildet sich nach Auflösung der Kernmembran eine regelrechte Äquatorialplatte aus, die nun wieder 16 Doppelchromosomen enthält (Fig. 58). In der Abbildung läßt sich allerdings die wahre Chromosomenzahl schwer wiedergeben, weil gewöhnlich mehrere Chromosomen übereinander liegen und also in der Zeichnung mehr oder weniger zusammenfallen. In der Anaphase werden die Hälften der Dyaden getrennt, so daß auf jede Polplatte 16 Chromosomen entfallen (Fig. 59). In Fig. 59 und 60 stellt die obere Chromosomengruppe die Polplatte dar, welche in den zweiten Richtungskörper kommt; sie liegt im Ausstrichpräparat in einer höheren Ebene. Daß aber auch Doncaster nicht Unrecht gehabt hat, möge die Fig. 60 illustrieren. Häufig findet in der Tat eine paarweise Vereinigung von Chromosomen statt, wie sie Doncaster beschrieben hat, so daß man bei nur flüchtiger Untersuchung den Eindruck gewinnen kann, es gelangten nur acht Chromosomen in jede Spermatide. Die Chromosomenkoppelung ist indessen in den meisten Fällen nicht so innig, daß man die Doppelwertigkeit der einzelnen Chromosomen nicht mehr nachweisen könnte, wie ja ebenfalls schon Doncaster angegeben hat.

6. Die Ovogonienteilungen und die Differenzierung der Keimzellen.

Zum Schluß bleibt noch die Frage zu beantworten, ob die Bildung der Sammelchromosomen in den weiblichen Geschlechtszellen kurz vor

[1]) Daß die einzelnen Zellen im Ausstrichpräparat gewöhnlich etwas verzerrt sind und der »1. Richtungskörper« infolgedessen meist schlecht konserviert ist, ist für uns hier, wo es sich lediglich um die Chromosomenzahlen handelt, belanglos. Meves hat ja die Samenreifung bis in alle Details geschildert.

der Eireifung oder bereits in einem früheren Stadium erfolgt. Die Ovogonienteilungen mußten hierüber Aufschluß geben. Wir besitzen »über die Differenzierung der Zellelemente im Ovarium der Bienenkönigin« eine Untersuchung von PAULCKE (1901). Dieser beobachtete in der Endkammer der Eiröhren niemals Mitosen und schließt hieraus — da bei der großen Mengenzunahme der Zellen Teilungen in dieser Zone stattfinden müssen —, daß die Kerne sich hauptsächlich amitotisch vermehren. Die Richtigkeit dieser Angabe möchte ich bezweifeln, da ich zahlreiche vollkommen normale Mitosen fand. Die Mitosen sind allerdings auf eine sehr schmale Zone beschränkt und auch in dieser Zone findet man sie nicht gerade häufig. Das scheint mir indessen nur ein Beweis dafür zu sein, daß die Ovogonienteilungen sehr schnell ablaufen; Bilder, die für eine amitotische Vermehrung der Kerne sprechen, beobachtete ich niemals.

Gleich hier sei bemerkt, daß ich die übrigen Angaben PAULCKES im großen und ganzen bestätigen konnte. Aber es zeigte sich im Laufe der Untersuchung, daß die Arbeit PAULCKES nur ein ganz oberflächliches Bild der Differenzierung der Zellelemente im Ovarium der Bienenkönigin gibt, und daß ihm so ziemlich alle interessanten Einzelheiten vollkommen entgangen sind. So schien es mir gut, die Eibildung bei der Honigbiene erneut möglichst eingehend zu untersuchen, eine Untersuchung, die ich in einer eignen Abhandlung zu veröffentlichen gedenke. Hier sei nur auf das uns an dieser Stelle speziell Interessierende näher eingegangen.

Das in Fig. 61 abgebildete Stadium zeigt die noch undifferenzierten »Keimzellen«[1]), die Ureizellen, aus denen erstens die Eizellen, sodann die Nährzellen und drittens die Follikelzellen hervorgehen. Die Eiröhre besitzt hier noch ein sehr geringes Volumen und die Keimzellen stehen senkrecht zu der Längsrichtung derselben in dicht gedrängter Reihe. Die nächsten Stadien bis zur Bildung der Nährkammern gleichen sehr den unlängst von KERN (1912) für einige Caraben beschriebenen Verhältnissen. Zunächst findet man hier wie dort eine Anzahl birnförmig gestalteter Zellen durch die sogenannten Plasmodesmen oder Zellkoppeln, mit Eisenhämatoyxlin stark färbbare Gebilde, zu einer Rosette vereinigt (Fig. 62).

Diese Zone interessiert uns ganz besonders, da sich in ihr die Mitosen finden. Die Chromosomenzahl — die Spindeln sind häufig sehr breit — konnte ich mit Sicherheit auf 16 bestimmen (Fig. 63). Daraus geht hervor, daß die Bildung der Sammelchromosomen in den weiblichen Ge-

[1]) Ich gebe hier die Differenzierung der Ei-, Nähr- und Epithelzellen aus indifferenten Elementen des Endfaches zunächst im Anschluß an PAULCKE wieder. Auf die in letzter Zeit viel diskutierte Frage der unabhängigen Entstehung von Ei- und Nährzellen einerseits, Epithelzellen anderseits werde ich an andrer Stelle eingehen.

schlechtszellen auf diesem Stadium bereits erfolgt ist. Es enthalten demnach die Kerne der Ovogonien ebensoviel Chromosomen wie die der Spermatogonien. Daß aber in der Tat die Chromosomen der Ovogonien Sammelchromosomen darstellen, d. h. mehrwertig — und zwar zweiwertig — sind, während die Chromosomen der Spermatogonien nur einwertig sind, geht klar und deutlich aus der Befruchtung hervor, wo ein Spermakern mit 16 Chromosomen sich mit einem Eikern vereinigt, der aus nur acht Chromosomen entstanden ist.

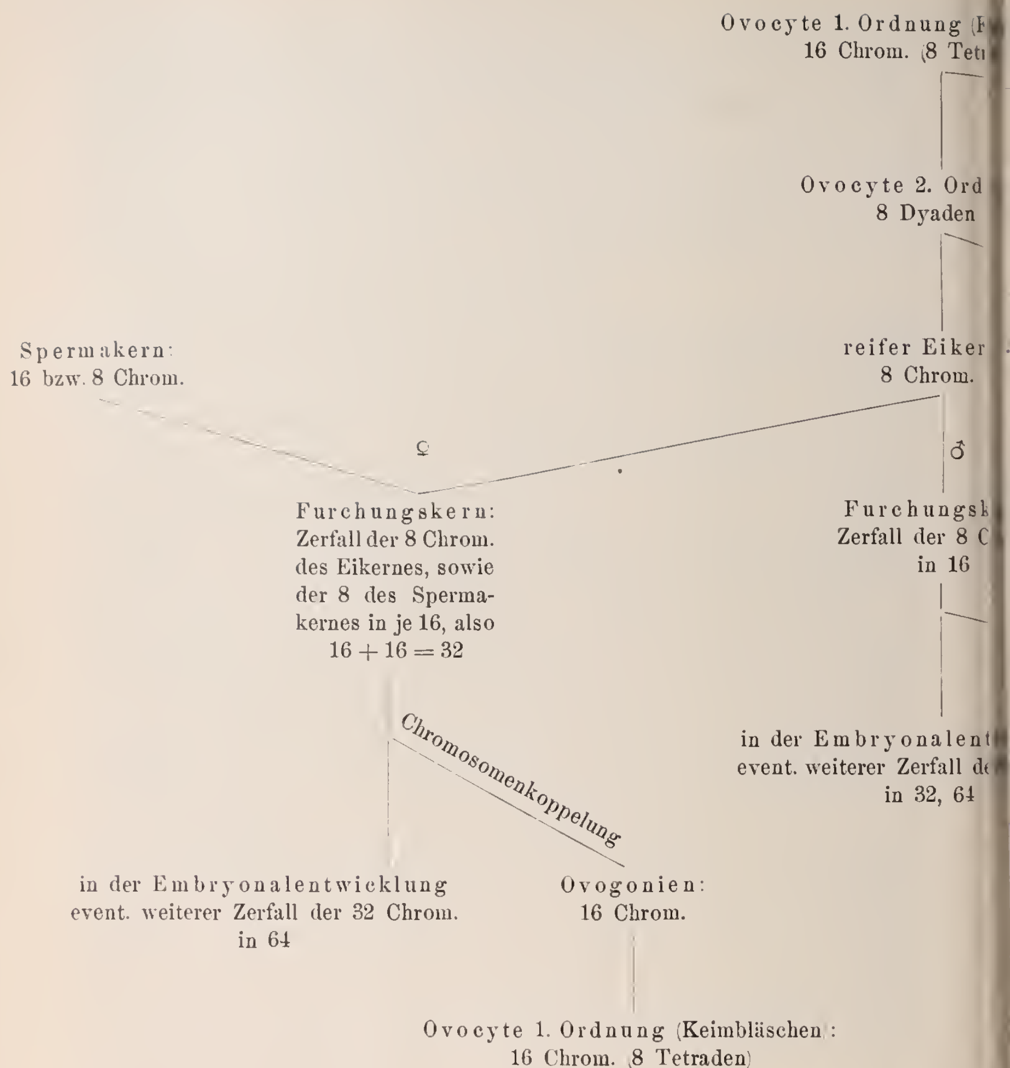
Nach der Teilung der Keimzellen macht sich sehr bald eine Differenzierung derselben bemerkbar (Fig. 64). Die einen Keimzellen wachsen schneller heran als die übrigen, es sind die zukünftigen Eier. Die übrigen Keimzellen, Nährzellen und Follikelzellen, sind zunächst noch wenig voneinander verschieden. In den Nährzellen zeigt indessen das Chromatin bald weitgehende Veränderungen, und für die Follikelzellen ist charakteristisch, daß sie sich auch späterhin noch — und zwar mitotisch — vermehren. Auch in diesen Mitosen beträgt die Chromosomenzahl 16. »Noch ehe die scharfe Sonderung der Ei- und Nährkammern stattgefunden hat«, schreibt KERN von den Caraben, »beginnen die Nährzellen ihre secernierende Tätigkeit. Die Zellkoppeln, die sich in den jungen Eizellen bis zum Keimbläschen verfolgen lassen, funktionieren dabei als Nährbahnen, ähnlich wie dies von GÜNTHERT (1910) für *Dytiscus* angegeben wird. Die Nährbahnen stellen sich als feine, das früher erwähnte Stützgerüst unterbrechende Plasmastränge dar, die da, wo sie aus den Zellen hervor- oder in sie eintreten, ringförmige, mit Eisenhämatoxylin tiefschwarz färbbare Verdickungen aufweisen. Im Speziellen sieht man solche Ringe auch da, wo die Plasmastränge in die Eizelle eintreten«. Ganz dasselbe gilt, wie Fig. 64 zeigt, auch für die Honigbiene. Nunmehr ordnet sich eine bestimmte Anzahl Nährzellen hinter einer Eizelle an, und durch eine Schicht Follikelzellen wird diese Gruppe von den übrigen Zellen getrennt, es erfolgt die Bildung der Nährkammern (Fig. 65), wie sie bereits PAULCKE kurz beschrieben hat.

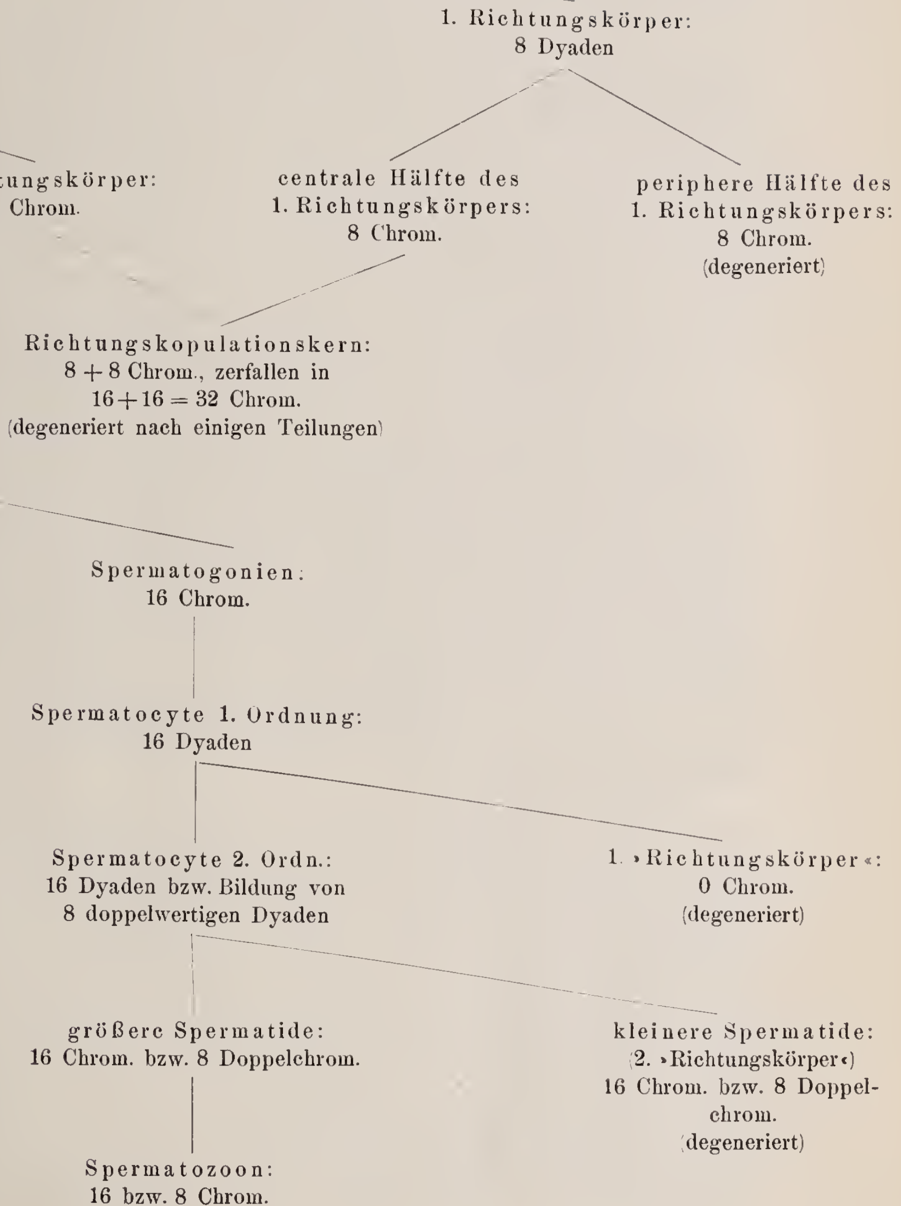
Allgemeiner Teil.

1. Die Chromosomenzahlen.

Die nebenstehende Tabelle möge noch einmal einen Überblick geben über das zunächst etwas kompliziert erscheinende Verhalten der Chromosomen bei der Honigbiene.

Schon im speziellen Teil habe ich darauf hingewiesen, daß in der Spermatogenese die Chromosomenkoppelung — wenn überhaupt eine


Ovocyte 1. Ordnung (F
16 Chrom. (8 Tet
Ovocyte 2. Ord
8 Dyaden
Spermakern:
16 bzw. 8 Chrom.
reifer Eiker
8 Chrom.
♀
♂
Furchungskern:
Zerfall der 8 Chrom.
des Eikernes, sowie
der 8 des Sperma-
kernes in je 16, also
16 + 16 = 32
Furchungsk
Zerfall der 8 C
in 16
Chromosomenkoppelung
in der Embryonalent
event. weiterer Zerfall d
in 32, 64
in der Embryonalentwicklung
event. weiterer Zerfall der 32 Chrom.
in 64
Ovogonien:
16 Chrom.
Ovocyte 1. Ordnung (Keimbläschen):
16 Chrom. (8 Tetraden)


1. Richtungskörper:
8 Dyaden
2. Richtungskörper:
8 Chrom.
centrale Hälfte des
1. Richtungskörpers:
8 Chrom.
periphere Hälfte des
1. Richtungskörpers:
8 Chrom.
(degeneriert)
Richtungskopulationskern:
8 + 8 Chrom., zerfallen in
16 + 16 = 32 Chrom.
(degeneriert nach einigen Teilungen)
Spermatogonien:
16 Chrom.
Spermatocyte 1. Ordnung:
16 Dyaden
Spermatocyte 2. Ordn.:
16 Dyaden bzw. Bildung von
8 doppelwertigen Dyaden
1. »Richtungskörper«:
0 Chrom.
(degeneriert)
größere Spermatide:
16 Chrom. bzw. 8 Doppelchrom.
kleinere Spermatide:
(2. »Richtungskörper«)
16 Chrom. bzw. 8 Doppel-
chrom.
(degeneriert)
Spermatozoon:
16 bzw. 8 Chrom.

solche erfolgt — meist nicht so innig ist, daß man die Doppelwertigkeit der einzelnen Chromosomen morphologisch nicht mehr nachweisen könnte. Unterbleibt die Chromosomenkoppelung ganz, so liegen doch häufig die einzelnen Elemente paarweise beisammen, mit andern Worten: man findet alle Übergänge von 16 selbständigen Chromosomen in der zweiten Reifungsteilung zu acht doppelwertigen Elementen.

Wie in der Spermatogenese die Chromosomenkoppelung nicht allgemein durchgeführt wird, so ist es sehr wohl denkbar, daß sie auch in der Ovogenese gelegentlich unterbleibt. Eine Beobachtung von PETRUNKEWITSCH dürfte damit ihre Erklärung finden. In einigen Eiern, die von eierlegenden Arbeiterinnen stammten, fand er in der ersten Richtungsspindel die doppelte Chromosomenzahl. Daß diese Eier gerade von Arbeiterinnen stammten — ob alle von derselben Arbeiterin herrührten, ist aus den Angaben von PETRUNKEWITSCH nicht ersichtlich — erweckt die Vermutung, daß das Unterbleiben der Chromosomenkoppelung auf die rudimentäre Entwicklung des Ovars zurückzuführen ist.

Ich habe schon betont, daß ich selbst nie höhere Chromosomenzahlen als 32 feststellen konnte. PETRUNKEWITSCH (1904) zählte indessen in den Blastodermspindeln 64 Chromosomen, und auch MEVES (1907) gibt für somatische Zellen ähnliche Zahlen an. Nach allen Beobachtungen ist jedenfalls sicher, daß bei der Honigbiene die Chromosomenzahl sehr variabel ist — möglicherweise ist, wie gesagt, das Verhalten der Chromosomen auch bei den verschiedenen Rassen verschieden —, bei aller Variabilität aber ist die Chromosomenzahl doch insofern konstant, als sie immer acht oder ein Vielfaches dieser Zahl beträgt.

Auch bei andern Hymenopteren sind Chromosomenkoppelungen nicht selten.

Hier muß ich nun zunächst auf eine Untersuchung eingehen, deren Resultate in einer vorläufigen Mitteilung veröffentlicht wurden, als der spezielle Teil meiner Arbeit bereits abgeschlossen vorlag, die Untersuchungen von ARMBRUSTER (1913) »Über die Chromatinverhältnisse bei solitären Bienen und ihre Beziehung zur Frage der Geschlechtsbestimmung«. Um die Frage zu entscheiden, ob sich auch bei den solitären Bienen die Männchen aus unbefruchteten Eiern entwickeln, untersuchte ARMBRUSTER die Spermatocytenteilungen von *Osmia cornuta*, einer Mauerbiene. Während in vielen Punkten sich eine große Übereinstimmung zwischen *Apis* und *Osmia* feststellen ließ, soll ein wichtiger Unterschied in den Reifungsteilungen existieren, es soll die einzige durchgeführte Kernteilung keine Äquationsteilung, sondern eine Reduktions-

teilung sein. Die Spermatocytenteilungen bei den Hymenopteren sind an den verschiedensten Objekten und selbst an gleichen Objekten von den verschiedensten Seiten beobachtet worden, nach sämtlichen Beobachtungen verlaufen diese Teilungen bei allen Hymenopteren in einer ganz charakteristischen Weise. Und gerade die wichtigste Feststellung ist eben die, daß die Chromosomenreduktion unterbleibt und zwar deshalb unterbleibt, weil die männlichen Tiere nur die halbe Chromosomenzahl, nur das mütterliche Chromosomensortiment, besitzen. Sollte aber *Osmia* sich tatsächlich in dieser Hinsicht anders verhalten[1], oder haben Meves und Duesberg, Mark and Copeland, Doncaster, Lams, Granata und ich selbst falsch beobachtet bzw. falsch interpretiert[2]? Nun, ein Vergleich der Spermatocytenteilungen bei *Osmia*, wie sie Armbruster beschreibt, mit denen bei *Apis*, wie ich sie im speziellen Teil dargestellt habe, zeigt, daß der Prozeß bei ersterer in prinzipiell ganz der gleichen Weise verläuft, daß aber Armbruster seinen Befunden eine unrichtige Deutung gegeben hat. An nebenstehendem Schema (Textfig. 6) möge dies erläutert werden.

In beiden Fällen weisen die Spermatogonienmitosen 16 Chromosomen auf, und während der ganzen Wachstumsperiode beobachtet man im Kern 16 stäbchenförmige Chromosomen (Textfig. 6 *A*). Bei *Apis* läßt gegen Ende der Wachstumsperiode jedes Chromosom einen Längsspalt erkennen (Textfig. 6 *B*), der bei *Osmia* nicht so deutlich zu sein scheint, da Armbruster ihn nicht auffinden konnte. Die 16 Stäbchen (Doppelstäbchen) verkürzen sich jetzt sehr stark, so daß wir schließlich 16 kugel-

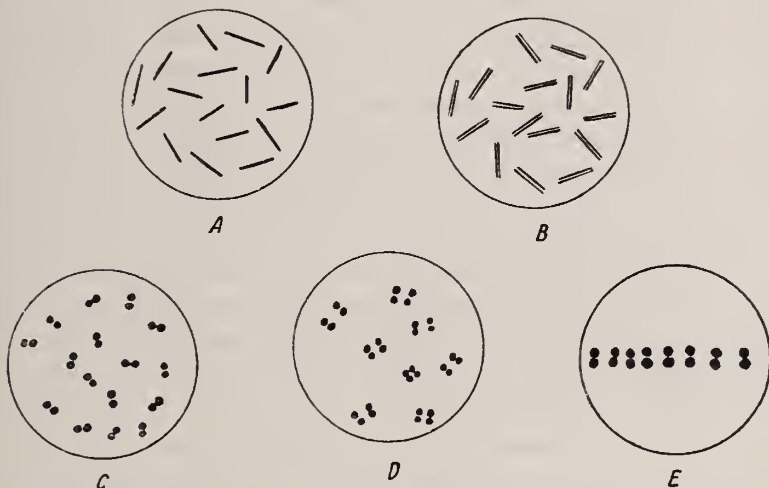
---

[1]) Armbruster möchte übrigens trotzdem aus seinen Befunden und auf Grund der biologischen Beobachtungen auf eine parthenogenetische Entstehung der Männchen schließen.

[2]) Armbruster meint: »Meves verwendet seine Figur in seinem Beweise für eine Äquationsteilung, was freilich nur schwer verständlich erscheint; Doncaster 1906 schließt aus seiner Figur auf eine Reduktionsteilung, wenn er 1907 glaubte seine Meinung ändern zu sollen, so sind die Gründe dafür nicht stichhaltig«. Nun habe ich ja bereits selbst im speziellen Teil darauf hingewiesen, daß die Chromosomenzahlen in den verschiedenen Abbildungen von Meves sehr verschieden sind, eine Reduktionsteilung beweisen sie indessen unter keinen Umständen, und es scheint Armbruster entgangen zu sein, daß Meves in einer Nachschrift zu seiner ausführlichen Arbeit noch mit besonderem Nachdruck Doncaster gegenüber erklärt, daß er 16 selbständige Chromosomen in den Tochterplatten zählte. Daß Doncaster ohne stichhaltige Gründe seine Angaben berichtigt, nur um sich mit Meves in Einklang zu setzen, das zu glauben dürfte doch wohl schwer fallen. Übrigens sprechen sich ja auch Mark and Copeland vollkommen klar über die Chromosomenzahl aus, und auch ihre Angaben harmonieren vollständig mit denen von Meves, Doncaster (1907) und den meinigen.

förmige Chromosomen bzw. Doppelchromosomen (16 Dyaden) erhalten (Textfig. 6 *C*). Die Dyadennatur der einzelnen Chromosomen scheint wieder bei *Osmia* morphologisch nicht so schön zum Ausdruck zu kommen wie bei *Apis*, immerhin gibt Armbruster an, daß »manchmal auch biskuitförmige Formen zu sehen sind«. Auf dieses Stadium folgt bei *Apis* die Abschnürung der kernlosen Cytoplasmaknospe, des ersten Richtungskörpers. Armbruster hält es nicht für wahrscheinlich, daß bei *Osmia* regelmäßig das gleiche stattfindet, die diesbezüglichen Angaben in seiner vorläufigen Mitteilung sind indessen zu dürftig, als daß man

Textfig. 6.



Schematische Darstellung des Verhaltens der Chromosomen während der Spermatocytenteilungen. *A* 16 Chromosomen, *B* Auftreten des Längsspaltes, *C* Verkürzung der Dyaden, *D* paarweise Verschmelzung der Dyaden zu 8 Doppeldyaden (*E*).

beurteilen könnte, inwieweit hier wirklich Unterschiede zwischen den beiden Formen bestehen.

An die Bildung des ersten Richtungskörpers schließt sich die zweite Reifungsteilung an und hier weichen nun unsre Ansichten über die Bedeutung der einzelnen chromatischen Elemente auseinander. Armbruster zählte in der Äquatorialplatte 16 Chromosomenkugeln, die eine »deutliche Anordnung zu Paaren« aufweisen[1]). Jede Kugel soll einem ganzen

[1]) Armbruster gibt an, daß anfangs »eine paarweise Gruppierung noch nicht zu konstatieren« ist und verweist auf seine Fig. 3. In Fig. 3 sind zwar die Chromosomenpaare noch nicht so schön in einer Ebene angeordnet wie in Fig. 4, daß aber die einzelnen Chromosomen nicht zu Paaren gruppiert sind, davon vermag diese eine Figur nicht zu überzeugen.

Chromosom, also einem Stäbchen, wie er es in Fig. 1 abbildet, entsprechen, und in der Anaphase sollen dann die Paare sich trennen und auf jede Spermatide acht Chromosomen kommen. Das wäre allerdings dann eine Reduktionsteilung. Aber die Verhältnisse bei der Honigbiene zeigen, daß die 16 Chromosomenkugeln bzw. 8 Chromosomenpaare eine andre Wertigkeit haben, als ARMBRUSTER annimmt. Die 16 in Textfig. 6 *C* abgebildeten Dyaden verschmelzen paarweise miteinander (Textfig. 6 *D*)[1], so daß wir — morphologisch — acht Dyaden erhalten, die sich in der Äquatorialplatte anordnen (Textfig. 6 *E*), und deren Hälften in der Anaphase getrennt werden, so daß zwei Spermatiden resultieren mit je acht zweiwertigen Chromosomen. Die einzige in der Spermatogenese der Hymenopteren erfolgende Kernteilung ist also eine Äquations- und keine Reduktionsteilung. Vollkommen bewiesen wird das auch durch die Tatsache, daß bei der Honigbiene die Chromosomenkoppelung nicht immer erfolgt, so daß dann 16 einwertige Chromosomen auf jede Spermatide kommen und daß dort, wo sie erfolgt, häufig sich die Doppelwertigkeit der einzelnen Elemente auch morphologisch noch nachweisen läßt (vgl. den speziellen Teil).

Bei *Xylocopa*, einer Holzbiene, die GRANATA (1909) untersuchte, »il numero dei cromosomi degli spermatogoni — 16 — passa, non ridotto, negli spermatociti e negli spermatidi«. Die einzige durchgeführte Kernteilung ist also eine Äquationsteilung, eine Bildung von Sammelchromosomen erfolgt anscheinend nicht.

Die Chromosomenzahlen in den Spermatocytenteilungen der Gattung *Vespa*, die von MARK and COPELAND (1907) und MEVES und DUESBERG (1908) in verschiedenen Species untersucht wurde, konnten nicht genau ermittelt werden. Die Chromosomenzahl scheint etwas größer zu sein als bei der Honigbiene. Die Teilung ist eine Äquationsteilung.

Die Spermatocytenteilungen bei der Ameise studierte LAMS (1908), und zwar bei *Camponotus*. Auch bei diesem Objekt ließ sich die Chromosomenzahl nicht genau feststellen. Die Abbildungen machen es wahrscheinlich, daß auch bei den Ameisen eine Chromosomenkoppelung vor der zweiten Spermatocytenteilung erfolgt. ARMBRUSTER sieht in den Bildern natürlich wieder einen Beweis für eine Reduktionsteilung.

Über die Spermatogenese der Blatt- und Gallwespen besitzen wir Untersuchungen von DONCASTER (1906a, 1907a, 1909, 1910, 1911). Auch

[1]) Vgl. übrigens die Fig. 64 und 65 von MEVES, die meiner Ansicht nach die paarweise Verschmelzung der Dyaden — die Paare gleichen echten Tetraden, haben aber eine andre Entstehung als diese — zeigen. MEVES erwähnt diese Beobachtung im Text nicht.

bei diesen Hymenopteren verlaufen die Reifungsteilungen prinzipiell in der gleichen Weise wie bei den übrigen. Allerdings sind die Angaben DONCASTERS, speziell die, welche die Blattwespen betreffen, mit Vorsicht zu betrachten und bedürfen, wie er selbst zugibt, sehr der Nachprüfung. Indessen gerade die Chromosomenzahlen in den Spermatogonien- und Spermatocytenteilungen der Blattwespen hat er selbst nochmals nachgeprüft und schreibt darüber in seiner Correction (1909): "In the spermatogonia the number appears to be about sixteen, and that in spermatocyte mitoses about eight, but if eight is the true reduced number, the occurance of sixteen in the spermatogonial mitoses of larvae derived from parthenogenetic eggs is unexplained." Also auch hier wieder, wie es scheint, eine Chromosomenkoppelung, d. h. die gleichen Verhältnisse wie bei der Honigbiene.

Noch sei ein Fall von Chromosomenkoppelung in der Embryonalentwicklung eines Hymenopters erwähnt. Nach SCHLEIP (1909) besteht die Eireifung bei *Rhodites rosae* in der Abschnürung zweier Richtungskörper, aber beide Reifungsteilungen sind Äquationsteilungen, sodaß die normale Chromosomenzahl 12 im reifen, immer unbefruchtet bleibenden Ei erhalten bleibt. Während in den Furchungskernen sich dieselbe Zahl findet, weisen die Äquatorialplatten der Blastodermspindeln nur noch sechs Chromosomen auf. Es ist also bei diesem Hymenopter gerade ungekehrt wie bei der Honigbiene, hier ein Zerfall der Chromosomen nach der Eireifung in geringerwertige Elemente, dort eine Bildung von Sammelchromosomen in der Embryonalentwicklung.

Auch bei zahlreichen andern Tieren sowie bei Pflanzen sind Chromosomenkoppelungen häufig beschrieben worden. Ich versage es mir, hier auf die vielen Fälle einzeln einzugehen und verweise auf die Zusammenstellungen von HÄCKER (1907) und STRASBURGER (1910). Erinnern möchte ich nur an die Sammelchromosomen von *Ascaris* und an einen jüngst von SEILER (1913) beschriebenen Fall von paarweiser Chromosomenbindung bei einem Schmetterling, *Phragmatobia*, der dadurch merkwürdig ist, daß die Bindung in der Anaphase der ersten Reifungsteilung des Eies erfolgt, bei Beginn der zweiten Reifungsteilung aber schon wieder aufgehoben wird.

Vom theoretischen Standpunkte aus ist es von Wichtigkeit, ob bei einer Vermehrung der Chromosomen die Erhöhung der Zahl durch Längsspaltung oder durch Querspaltung der einzelnen Elemente erreicht wird. »Längsspaltungen von Chromosomen liefern«, sagt STRASBURGER (1910), »übereinstimmende Produkte, die, zu einem Kern vereinigt, eine Verdoppelung bzw. noch stärkere Vervielfältigung seiner Erbeinheiten be-

dingen müssen.« »Im Gegensatz zu der aus Längsspaltung abgeleiteten Chromosomenvermehrung hat die auf Querteilung beruhende keine Vergrößerung der Kerne zur Folge. Der Chromosomensatz wird ja alsdann nicht vervielfältigt, die Summe der im Kern vertretenen Erbeinheiten bleibt die gleiche wie zuvor, es ist somit kein Grund für dessen Vergrößerung vorhanden.« STRASBURGER führt aus dem Pflanzenreich Fälle für Längs- und solche für Querteilung an. Auch im Tierreich dürfte Längs- und Querteilung vorkommen.

So ist vielleicht *Ascaris megalocephala bivalens* aus *univalens* durch eine Längsteilung der Chromosomen, verbunden mit einem Ausbleiben des Auseinanderweichens der Tochterchromosomen entstanden. Der Zerfall der zwei bzw. vier Chromosomen in der Embryonalentwicklung in 24 bzw. 48 Chromosomen ist hingegen auf Querteilungen zurückzuführen. Es ist klar, daß man von einer Herabsetzung der Wertigkeit der Chromosomen nur bei einer Querteilung sprechen kann, denn zwei durch Längsteilung aus einem Mutterchromosom hervorgegangene Tochterchromosomen enthalten nach unsern theoretischen Vorstellungen jedes gleich viele und die gleichen Erbeinheiten, zwei durch Querteilung entstandene Tochterchromosomen aber enthalten verschiedene Erbeinheiten und zusammen so viele wie das Mutterchromosom. Es besitzt also ein Chromosom von *Ascaris megalocephala univalens* nicht etwa die doppelte Wertigkeit eines Chromosoms von *bivalens*, sondern beide sind gleichwertig. Da aber im ersten Furchungskern von *Ascaris megalocephala univalens* nur zwei Chromosomen vorhanden sind, von denen das eine vom Vater, das andre von der Mutter stammt, so müssen diese beiden entsprechende Erbeinheiten enthalten. Mithin besitzen aber auch die vier Chromosomen des ersten Furchungskernes von *bivalens* alle gleiche Erbeinheiten, die wieder nur insofern voneinander verschieden sind, als die eine Hälfte vom Vater, die andre von der Mutter stammt.

Ganz anders liegen jedoch die Verhältnisse, wenn man — einige Beobachtungen scheinen zugunsten dieser Ansicht zu sprechen — *Ascaris megalocephala bivalens* als die phylogenetisch ältere Form ansieht. Dann muß man sich *univalens* durch paarweise Verschmelzung zweier Chromosomen entstanden denken. Die Chromosomen dieser Rasse stellen dann zweiwertige, die von *bivalens* einwertige Elemente dar.

Wenn in einem künstlich zur Entwicklung gebrachten unbefruchteten Ei, wie z. B. bei *Mactra* (KOSTANECKI 1904), eine Wiederherstellung der normalen Chromosomenzahl erfolgt, so geschieht dies wohl regelmäßig durch eine Längsspaltung der Chromosomen. Ebenso dürfte die diploide Chromosomenzahl bei der männlichen Parthenogenese der *Oenothera*

(Goldschmidt 1912b) ein Resultat der Längsspaltung der Chromosomen sein.

In welche Kategorie gehört nun die Chromosomenvermehrung, wie wir sie bei den Hymenopteren finden? Armbruster sieht die acht in das Spermatozoon kommenden Chromosomen ebenso wie die acht des weiblichen Vorkernes als einwertig an und glaubt meine Ansicht, daß alle diese Chromosomen zweiwertig sind, widerlegt zu haben. Die Vermehrung der Chromosomen vor Beginn der Furchung läßt er im Anschluß an Petrunkewitsch durch Längsspaltung geschehen; auch eine eventuelle weitere Erhöhung der Chromosomenzahl in der Embryonalentwicklung soll auf die gleiche Weise erzielt werden. »Da die somatische Chromosomenzahl bei Weibchen und Männchen«, schreibt er, »wahrscheinlich 64 ist, muß Nachtsheim eine »spontane Vermehrung« prinzipiell, wenigstens für das Soma, annehmen oder er darf die 32 Chromosomen in der Furchungsspindel des befruchteten Eies nicht als einwertig bezeichnen«. Ich habe allerdings die Chromosomen der Furchungsspindeln, sowohl des befruchteten als auch des unbefruchteten Eies, als einwertig bezeichnet, aber ist damit denn gesagt, daß ein weiterer Zerfall durch Querteilung unmöglich ist? Das ist doch wohl nur ein Spiel mit Worten, denn was hindert uns, von halbwertigen Chromosomen zu sprechen? Wer der zweiten der oben über die Entstehung der beiden Rassen von *Ascaris* vorgetragenen Anschauungen huldigt, bezeichnet die Chromosomen von *Ascaris megalocephala bivalens* als ein-, die von *univalens* als zweiwertig, ist sich aber doch dabei sehr wohl bewußt, daß auch die »einwertigen« Chromosomen von bivalens in Wirklichkeit Sammelchromosomen darstellen, die im Laufe der Embryonalentwicklung in geringerwertige Elemente zerfallen!

Was aber den morphologischen Nachweis anbetrifft, daß es sich bei den Chromosomenvermehrungen tatsächlich um Längs- und nicht um Querspaltungen handelt, so sehe ich nicht, wie Armbruster diesen erbringen will. Bei der außerordentlichen Kleinheit der einzelnen Elemente und ihrer fast kugeligen Form ist das ein Ding der Unmöglichkeit, und so muß es wohl dem Geschmacke jedes einzelnen überlassen bleiben, wie er sich in der vorliegenden Frage verhalten will. Die Chromosomen der Furchungszellen möchte ich deshalb als geringerwertige Elemente ansehen als die der Geschlechtszellen, weil ich die höhere Chromosomenzahl für die primäre, d. h. für die phylogenetisch ältere halte. Beobachtungen im Tier- (z. B. die von Braun 1909 an Cyclopiden) und Pflanzenreich sprechen dafür, daß im Laufe der Phylogenie eher eine Verminderung als eine Erhöhung der Chromosomenzahl stattgefunden hat. Es ist viel-

leicht 64 die ursprüngliche »normale« Chromosomenzahl der Hymenopteren gewesen, die dann durch paarweisen Zusammenschluß der einzelnen Elemente auf 32 herabgesetzt wurde, und in den Geschlechtszellen wird diese Zahl durch weiteren Zusammenschluß der Elemente heute bereits nochmals um die Hälfte vermindert[1]).

Was die Bildung von Sammelchromosomen bezw. die Herabsetzung der Chromosomenzahl in der phylogenetischen Entwicklung für eine Bedeutung für den Organismus hat, läßt sich schwer beurteilen. Man könnte vielleicht daran denken, daß bei höher entwickelten Organismen eine exaktere Verteilung der Vererbungsträger notwendig ist als bei niederen, daß diese aber bei geringer Chromosomenzahl leichter sich bewerkstelligen läßt als bei hoher.

2. Parthenogenese und Geschlechtsbestimmung bei den Hymenopteren.

Die biologischen und cytologischen Beobachtungen über die Fortpflanzungsverhältnisse der Hymenopteren führten zu dem Resultat, daß die Männchen aus unbefruchteten Eiern entstehen, und da bereits zahlreiche Vertreter aus allen Gruppen untersucht wurden, so ist wohl der Schluß berechtigt, daß die DZIERZONsche Lehre für alle Hymenopteren gilt. Auf Grund der cytologischen Befunde können wir die Art der Geschlechtsbestimmung bei den Hymenopteren dann weiter in folgender Weise definieren:

Die Männchen der Hymenopteren entstehen aus unbefruchteten Eiern, die zwei Richtungskörper abgeschnürt und eine Reduktion ihrer Chromosomenzahl erfahren haben. Sie besitzen also nur *ein* Chromosomensortiment, das mütterliche, und infolgedessen muß in der Spermatogenese die Reduktionsteilung unterbleiben. Die Weibchen der Hymenopteren besitzen *beide* Chromosomensortimente, also die diploide Chromosomenzahl, in ihren somatischen Zellen, da sie aus befruchteten Eiern ihre Entstehung nehmen oder — bei den Blatt- und Gallwespen — zwar ebenfalls aus unbefruchteten Eiern, aber aus solchen, die in den Reifungsteilungen ihre Chromosomenzahl nicht reduziert haben; entweder findet in diesen Eiern überhaupt nur *eine* Reifungsteilung statt, oder beide Reifungsteilungen sind Äquationsteilungen. Der zweite Richtungs-

---

[1]) Nach der Ansicht STRASBURGERS (1909) wäre freilich damit noch nicht eine Bildung *mehrwertiger* Chromosomen bewiesen; er stellt sich vor, »daß die homologen Erbeinheiten zunächst in Mehrzahl in jedem Kern vertreten waren und daß übereinstimmend im Pflanzen- wie im Tierreich die phylogenetische Entwicklung dahin führte, jede Erbeinheit auf die Einzahl zu reduzieren«.

körper kann also — sofern die zweite Reifungsteilung eine Reduktionsteilung ist — an Stelle des Spermatozoons treten, d. h. der zweite Richtungskörper bringt in Verbindung mit dem Eikern dasselbe Geschlecht hervor wie der Eikern in Verbindung mit einem Spermakern: Eier mit doppeltem Chromosomensortiment — das ist das Resultat, welches sich zunächst aus den cytologischen Beobachtungen ableiten läßt — ergeben Weibchen, Eier mit einfachem Chromosomensortiment ergeben Männchen.

Ob auch bei den Ameisen aus unbefruchteten Eiern — aus Eiern von Arbeiterinnen — gelegentlich Weibchen entstehen können, ist eine Frage, die noch weiterer — sowohl biologischer wie auch besonders cytologischer — Untersuchung bedarf. Man könnte sich ja vorstellen, daß einmal in einem unbefruchteten Ameisenei — wie es bei Terebrantien und Entophagen in den »weiblichen« Eiern die Regel ist — die Reduktionsteilung aus irgendeinem Grunde unterbleibt; vom theoretischen Standpunkte aus müßte aus einem solchen Ei ein Weibchen entstehen. Aber die biologischen Beobachtungen REICHENBACHS (1902) machen es für diesen Fall wenigstens sehr unwahrscheinlich, daß die Weibchen auf diese Weise aus unbefruchteten Eiern entstanden.

In einem königinlosen Nest von *Lasius niger*, das REICHENBACH beobachtete, entwickelte sich nämlich aus den Eiern der Arbeiterinnen nicht etwa neben zahlreichen Männchen hin und wieder einmal eine Arbeiterin, sondern es entstanden anfangs ausschließlich Arbeiterinnen, und erst zu der Zeit, wo in normalen Kolonien in der Natur Männchen auftreten, erschienen auch hier Männchen aus den Eiern der Arbeiterinnen. REICHENBACH schreibt darüber: »In der letzten Juliwoche, sozusagen auf den Tag, wo in den Gärten und den Straßen Frankfurts geflügelte Männchen und Weibchen von *Lasius niger* als Reste von Hochzeitsschwärmen ermüdet umherkriechen, gingen in meiner Kolonie etwa 1 Dutzend schöner, glänzender Männchen aus.« Dieselbe Beobachtung machte REICHENBACH an der gleichen Kolonie in drei aufeinanderfolgenden Jahren. Daß aber die Eier zu bestimmten Jahreszeiten nur eine Reifungsteilung durchmachen, dann aber plötzlich — man müßte doch wohl annehmen unter dem Einflusse der Arbeiterinnen — eine Reduktionsteilung erfahren und infolgedessen Männchen liefern, läßt sich doch wohl kaum annehmen. Aber ist es überhaupt sicher, daß die Eier, aus denen sich die Arbeiterinnen entwickelten, unbefruchtet waren? Mir scheint, daß gerade das Auftreten der Männchen zu ganz bestimmter Jahreszeit — genau zu der Zeit, wie nochmals betont sei, wo auch in der freien Natur die Männchen erscheinen! — nicht anders erklärt werden kann als durch die Annahme, daß die Arbeiterinnen, von denen die Eier stammten, be-

gattet waren. REICHENBACH macht denn auch selbst am Schlusse seiner Abhandlung darauf aufmerksam, daß er eine vorausgegangene Begattung der Arbeiterinnen durchaus nicht für ausgeschlossen hält.

Einige Beobachtungen fremder Autoren über die Entstehung von Arbeiterinnen aus Eiern von Ameisenarbeiterinnen hat WHEELER (1903) zusammengestellt. WHEELER ist zwar fest davon überzeugt, daß die betreffenden Eier alle unbefruchtet waren, aber CASTLE (1904) kritisiert doch wohl ganz mit Recht diesen Standpunkt. REICHENBACH hat, wie gesagt, selbst darauf hingewiesen, daß die Arbeiterinneneier möglicherweise befruchtet waren, und die übrigen von WHEELER angeführten Beobachtungen sind ebensowenig dazu angetan, um in dieser Frage irgendwie als Beweis verwendet werden zu können[1]).

Die speziell zur Klärung dieser Frage mit den unbedingt notwendigen Vorsichtsmaßregeln angestellten Beobachtungen führten alle zu negativen Resultaten. Miss FIELDE (1905) beobachtete nur aus Arbeiterinnen bestehende Kolonien von verschiedenen Ameisenspecies. Die Arbeiterinnen, die alle vom Tage ihres Ausschlüpfens an unter Kontrolle gehalten wurden — bei allen oben genannten Beobachtungen ist dies nicht geschehen —, legten zahlreiche Eier ab, alle entwickelten sich jedoch ausnahmslos zu Männchen. Auch die Nachkommenschaft einer unbefruchtet gebliebenen Ameisenkönigin bestand nur aus Männchen.

Noch umfangreichere Beobachtungen machte JANET (1909). Er schreibt darüber: «Vu l'importance d'une telle observation, j'ai essayé, mais en vain et non sans grande dépense de temps, de la répéter. Je l'ai fait, non pas dans un, mais dans trente nids artificiels. J'ai installé des colonies faibles et des colonies nombreuses; des colonies de vieux et des colonies de jeunes individus, et, enfin, des colonies incontestablement vierges, formées de cocons accompagnés de 10 à 15 jeunes ouvrières écloses sous mes yeux. J'ai varié les conditions d'alimentation et celles de chaleur. Toujours, invariablement, je n'ai obtenu que des mâles.»

Was mich aber ganz besonders veranlaßt, anzunehmen, daß die Arbeiterinnen REICHENBACHS begattet gewesen sind, ist die Tatsache, daß es bei den Ameisen — bei der einen Art mehr, bei der andern Art weniger häufig — die verschiedensten Zwischenformen zwischen Arbeiterinnen und Weibchen gibt (s. z. B. WASMANN 1895), angefangen mit Individuen, die sich kaum von einer normalen Arbeiterin unterscheiden, bis hinauf zu Individuen, die, um einen Ausdruck WASMANNS zu gebrau-

[1]) Ob eine von CRAWLEY (1911) gemachte Beobachtung als exakter Beweis für das Entstehen von Ameisenarbeiterinnen aus unbefruchteten Eiern von Arbeiterinnen dienen kann, kann ich leider nicht beurteilen, da mir die Abhandlung nicht vorlag.

chen, »echte Königinnen im Arbeitergewande« darstellen (»sekundäre Königinnen«). Die Arbeiterinnen REICHENBACHS wurden leider auf den Bau ihrer Geschlechtsorgane hin nicht untersucht. Eine Untersuchung der Geschlechtsorgane ergatogyner Ameisen aber, die Miss HOLLIDAY (1904) ausführte, ergab, daß bisweilen — bei den einzelnen Arten verschieden häufig — die Geschlechtsorgane vollkommen normal entwickelt sind und "there is no physiological reason why those workers possessing the receptaculum should not have the power of performing the function of the sexual female"[1]).

WASMANN schreibt: »Die Möglichkeit der Befruchtung eines solchen ergatoiden Weibchens durch Männchen desselben Nestes, etwa auf der Nestoberfläche, zur Zeit des sonstigen Paarungsfluges . . ., halte ich jedoch nicht für ausgeschlossen, da es auch manchmal bei Arten, deren beide Geschlechter geflügelt sind, vorkommt und bei *Formicoxenus*, wo die Männchen ergatoid und flügellos sind, sogar die Regel zu sein scheint.«

Es wurde oben als Resultat der cytologischen Beobachtungen über die Geschlechtsbestimmung bei den Hymenopteren angegeben: Eier mit doppeltem Chromosomensortiment ergeben Weibchen, Eier mit einfachem Chromosomensortiment ergeben Männchen. R. HERTWIG (1912) hat diesen Typ der Geschlechtsbestimmung, der sich nach den Beobachtungen von VON ERLANGER und LAUTERBORN (1897) und WHITNEY (1909) in gleicher Weise bei den Rotatorien findet, vielleicht auch noch für andre Gruppen (Cladoceren, *Dinophilus*?) Geltung hat, als »Hymenopteren-Typus« bezeichnet, hat aber zugleich auch der Vermutung Ausdruck

---

[1]) Die Beobachtungen HOLLIDAYS haben, was nicht unerwähnt gelassen sei, vor kurzem durch ADAM (1912) eine sehr scharfe Kritik erfahren. Er ist der Ansicht, daß HOLLIDAY »das Receptaculum seminis bei den Ameisen überhaupt nicht aufgefunden und in dem einen Falle, wo sie es wirklich wahrnahm, nicht als solches erkannt hat«. Ich will nicht zu entscheiden versuchen, inwieweit die ADAMsche Kritik berechtigt ist, aber es scheint mir doch, daß ADAM außer acht gelassen hat, daß Miss HOLLIDAY speziell ergatogyne Ameisen, d. h. soche, die sich schon äußerlich von normalen Arbeiterinnen unterschieden, untersucht hat. Wenn begattungsfähige Ameisenarbeiterinnen, d. h. Arbeiterinnen mit voll entwickelten Geschlechtsorganen vorkommen, so dürften sie ja gewiß außerordentlich selten sein. Daß aber das gelegentliche Vorkommen solcher Arbeiterinnen nicht im Bereiche der Unmöglichkeit oder auch nur Unwahrscheinlichkeit liegt, dürfte ADAM selbst damit bewiesen haben, daß auch die von ihm untersuchten Ameisenarbeiterinnen »in der Entwicklung ihrer Samentaschenrudimente ein« — von mir gesperrt — »sehr inkonstantes Verhalten« zeigten. Doch wie dem auch sei, diese sowie die obigen Ausführungen zeigen wohl zur Genüge, daß wir von der exakten Beantwortung der Frage, ob bei den Ameisen aus unbefruchteten Eiern auch Weibchen entstehen können, noch sehr weit entfernt sind.

gegeben, der Hymenopterentypus sei vielleicht nur eine Modifikation des Heterochromosomentypus. Verfolgen wir diesen Gedanken etwas weiter!

Die Fortpflanzungsverhältnisse, wie wir sie bei der Honigbiene und überhaupt bei den Hymenopteren finden, sind sicherlich als sekundäre Zustände zu betrachten, d. h. die Parthenogenese dürfte aus der zweigeschlechtlichen Fortpflanzung hervorgegangen sein. Es muß also eine Zeit gegeben haben, wo auch die Männchen der Hymenopteren aus befruchteten Eiern entstanden sind, und zu dieser Zeit müssen natürlich auch die Männchen das doppelte Chromosomensortiment besessen haben. Die weitere Folge ist, daß in der Spermatogenese dieses 'Ur'-Hymenopters eine Reduktionsteilung erfolgen mußte, und wenn, wie bei den meisten Insekten, die Männchen dieser Hymenopteren heterogamet waren, so mußten zwei Sorten von Spermatozoen, männchen- und weibchenbestimmende. entstehen. Die Annahme, daß die Männchen heterogamet waren, gewinnt sehr an Wahrscheinlichkeit durch die Tatsache, daß die Weibchen homogamet sind; denn alle Eier, die in normaler Weise die Reifungsteilungen durchgemacht haben, entwickeln sich unbefruchtet zu Männchen, ganz im Gegensatze z. B. zu den heterogameten Weibchen der Schmetterlinge (s. Seiler 1913), deren parthenogenetische Eier teils Männchen, teils Weibchen liefern sollen.

Es ist nun ziemlich gleichgültig, wie wir uns die beiden Sorten von Spermatozoen morphologisch different vorstellen. Nehmen wir einmal an, die Chromosomenverhältnisse seien ähnliche gewesen wie bei dem verbreitetsten Typ, dem Protenortyp, etwa wie bei dem so klaren Beispiel für diesen Typ, dem von Mulsow (1912) untersuchten Fischparasiten *Ancyracanthus*. Bei diesem besitzt das Weibchen 12 Chromosomen (10 Autosomen und 2 gleich große X-Elemente), das Männchen 11 Chromosomen (10 Autosomen und 1 ebenso großes X-Element). Alle Eier enthalten 5 + 1 Chromosomen, die Spermatozoen zur Hälfte 5 + 1, zur andern Hälfte 5 + 0 Chromosomen. Befruchtung eines Eies durch ein Spermatozoon mit 5 + 1 Chromosomen ergibt natürlich ein Weibchen, Ei + Spermatozoon mit 5 + 0 Chromosomen ein Männchen. Bei Vorhandensein von 2 X-Elementen entsteht also das weibliche, bei Vorhandensein von nur einem das männliche Geschlecht[1]).

---

[1]) Es soll hier nicht näher erörtert werden, wie man sich die Wirkung der X-Elemente im einzelnen denken kann und ob auch die Existenz einer Wechselwirkung zwischen X-Eementen und Autosomen anzunehmen ist. Die neue Erbformel, die Goldschmidt jüngst (1912 u. 1913) für die Geschlechtsvererbung aufgestellt hat, kann indessen, wie mir scheint, nicht ohne weitere Hilfshypothesen auf die Verhältnisse bei den Hymenopteren angewandt werden.

Übertragen wir diese Verhältnisse nun, unter Einsetzung der für die Honigbiene festgestellten Chromosomenzahl auf unser hypothetisches Hymenopter. Das Weibchen besäße — von der Bildung von Sammelchromosomen können wir hier absehen — 32 Chromosomen, bzw. 30 Autosomen und 2 X-Elemente, alle Eier erhalten 16 Chromosomen, bzw. 15 + 1. Das Männchen besäße dann ein X-Element weniger, also 30 + 1 = 31 Chromosomen. In der Spermatogenese würden Spermatozoen mit 15 + 1 = 16 und solche mit 15 + 0 = 15 Chromosomen gebildet. Wie bei *Ancyracanthus* würde beim Zusammentreffen von 2 X-Elementen ein Weibchen entstehen.

Was mußte aber geschehen, als die Eier zu irgendeinem Zeitpunkte die Fähigkeit erlangten, sich parthenogenetisch zu entwickeln? Hatten diese parthenogenetischen Eier, wie ehedem, zwei Reifungsteilungen durchlaufen und damit eine Reduktion ihrer Chromosomenzahl erfahren, so besaß der weibliche Vorkern und somit alle Zellen der sich entwickelnden Larve 16 Chromosomen, bzw. 15 Autosomen und ein X-Element. Das Vorhandensein nur eines X-Elementes ist aber, wie wir gesehen haben, für das männliche Geschlecht charakteristisch, es entsteht aus dem unbefruchteten Ei ein Männchen mit 15 + 1 Chromosomen. Wenn jetzt dieses Männchen seine Spermatozoen bildet, so kann eine Reduktionsteilung nicht durchgeführt werden, da das Männchen nur ein Chromosomensortiment besitzt. Und so sehen wir denn, daß in der Spermatogenese der Hymenopteren zwar gewissermaßen der Anlauf zu einer Reduktionsteilung genommen wird, aber die Durchführung erweist sich als ebenso unmöglich, wie man auf jüngeren Stadien vergeblich nach den synaptischen Phänomenen suchen wird, es kommt nur zur Abschnürung einer einfachen Cytoplasmaknospe. Die einzige durchgeführte Kernteilung, die zweite Spermatocytenteilung, ist eine Äquationsteilung, alle Spermatozoen enthalten jetzt 16 bzw. 15 + 1 Chromosomen, sind also weibchenbestimmend, aus dem heterogameten Männchen ist infolge der Parthenogenese ein homogametes geworden. Die männchenerzeugenden Spermatozoen sind eliminiert, alle befruchteten Eier liefern Weibchen.

Wie aber die Bedingungen zur Entstehung eines Weibchens durch die Vereinigung eines Spermakernes mit dem Eikern gegeben sind, so kann das gleiche — bei Blatt- und Gallwespen — durch eine Unterdrückung der Reduktionsteilung erreicht werden. Wie nach erfolgter Befruchtung enthält dann der erste Furchungskern 30 + 2 = 32 Chromosomen.

Noch auf einen Punkt muß ich hier etwas näher eingehen. Man hat wiederholt die Spermatogenese der Honigbiene mit der Spermato-

genese der Aphiden verglichen und gesagt, dort gehen ebenso wie hier die männchenerzeugenden Spermatozoen frühzeitig zu grunde, nur die weibchenerzeugenden Spermatiden ergeben befruchtungsfähige Samenfäden. M. E. ist dieser Vergleich und diese Folgerung vollkommen unberechtigt. Die Männchen der Aphiden entstehen aus unbefruchteten Eiern, die beide Chromosomensortimente, wenigstens die beiden Sortimente von Autosomen, beibehalten haben. Von den Eiern, die parthenogenetisch Weibchen liefern, unterscheiden sich diese Eier aber dadurch, daß sie ein X-Element weniger besitzen, d. h. das reife, ein Weibchen liefernde Ei besitzt sechs, das ein Männchen liefernde nur fünf Chromosomen. Wann und wie bei *Aphis* das eine X-Element der »männlichen« Eier eliminiert wird, wissen wir noch nicht, bei *Phylloxera* aber, wo die Verhältnisse ähnlich liegen, teilen sich nach Morgan (1912) in der einzigen Reifungsteilung alle Chromosomen außer einem, das ungeteilt in den Richtungskörper übergeht. Das aber ist eben der wichtige Unterschied zwischen Aphiden bzw. Phylloxeren und Hymenopteren, daß erstere im männlichen Geschlecht zwar ein Chromosom weniger als im weiblichen, aber nicht die reduzierte Chromosomenzahl, die Männchen der letzteren hingegen nur die haploide Chromosomenzahl besitzen! Bei den Aphiden und Phylloxeren kann und muß also in der Spermatogenese eine Reduktionsteilung erfolgen, bei den Hymenopteren ist sie unmöglich. Bei den Blattläusen liefert die erste Spermatocytenteilung ungleichwertige Elemente, männchen- und weibchenerzeugende Geschlechtszellen. Während die männchenerzeugenden Geschlechtszellen zugrunde gehen, macht jede weibchenerzeugende die zweite Spermatocytenteilung (Äquationsteilung) durch, so daß zwei weibchenerzeugende Spermatiden entstehen (von Baehr 1909). Bei den Hymenopteren fehlen die männchenerzeugenden Geschlechtszellen, es werden nur zwei weibchenerzeugende Spermatiden gebildet.

Man hat in der ungleichen Größe der beiden durch die zweite Spermatocytenteilung bei der Honigbiene gebildeten Spermatiden einen morphologischen Ausdruck für ihre Verschiedenwertigkeit sehen wollen und hat die kleineren, zugrundegehenden Spermatiden als die männchenbestimmenden bezeichnet. Diese Ansicht ist aber auch aus dem Grunde unhaltbar, weil bei den Wespen, Ameisen, Blatt- und Gallwespen durch die zweite Spermatocytenteilung gleich große Spermatiden entstehen, die beide sich in befruchtungsfähige Spermatozoen umwandeln. Wir hätten bei diesen Hymenopteren also dann zur Hälfte weibchenerzeugende, zur Hälfte männchenerzeugende Spermatozoen, während doch in Wirklichkeit die Männchen hier ebenso aus unbefruchteten Eiern ihre Ent-

stehung nehmen wie bei der Honigbiene. Mit der Geschlechtsbestimmung hat also die ungleiche Größe der Spermatiden und das Zugrundegehen der kleineren bei *Apis* nichts zu tun. Dieselben Verhältnisse wie bei *Apis* hat man bei *Osmia* und *Xyllocopa* gefunden; sie scheinen also auf die Familie der Apiden beschränkt zu sein. Vielleicht trifft MEVES (1907) das Richtige, wenn er die Rückbildung der einen der beiden Spermatiden mit Zweckmäßigkeitsgründen zu erklären sucht. »Es hat den Zwecken der Art besser entsprochen, weniger Spermien zu bilden und diese besser auszurüsten.« Es darf in der Tat nicht übersehen werden, daß bei *Apis* z. B. nahezu der ganze Mitochondrienkörper in der größeren Spermatide bleibt, während er bei *Vespa* gleichmäßig auf die beiden gleich großen Spermatiden verteilt wird. Inwiefern das Plus von Mitochondrien für das *Apis*-Spermatozoon von besonderem Werte ist, ist eine Frage, an deren Beantwortung wir wohl heute noch nicht denken können.

Ob der von DONCASTER (1909) in der Spermatogenese der Gallwespen beschriebene "extranuclear body of unknown nature" zur Geschlechtsbestimmung in irgendeiner Beziehung steht, insofern etwa die Spermatozoen, die diesen Körper besitzen, in Verbindung mit einem Ei einen Weibchenerzeuger, die andern einen Männchenerzeuger hervorbringen, bedarf einer genaueren Untersuchung. Vielleicht verliert diese Vermutung noch an Wahrscheinlichkeit durch eine Beobachtung von ARMBRUSTER (1913), der bei *Osmia*, wo es ja nur eine Sorte von Weibchen gibt, einen ähnlichen Körper gefunden zu haben glaubt. Nach ARMBRUSTER kommt der »rätselhafte, kernähnlich sich färbende Körper« bald in die größere, bald in die kleinere, zugrunde gehende Spermatide. Über die Herkunft dieses Körpers gibt ARMBRUSTER nichts an. Vielleicht sind diese Gebilde auch homolog den von SCHÄFER (1907) in der Spermatogenese von *Dytiscus* und von VON BAEHR (1909) in der Spermatogenese von *Aphis* beschriebenen »chromatischen Körpern«.

Schluß.

Zusammenfassung der Resultate.

Die wichtigsten Resultate der vorliegenden Untersuchungen seien im folgenden nochmals kurz zusammengestellt:

Die Untersuchungen ergaben zunächst einen vollkommenen Beweis für die Richtigkeit der von DZIERZON aufgestellten Theorie, daß die Drohnen aus unbefruchteten Eiern entstehen. Nicht nur die von drohnenbrütigen Königinnen oder Arbeiterinnen stammenden Drohnen entwickeln sich auf parthenogenetischem

Wege, sondern auch die »normalen«, d. h. die von einer normal begatteten und nicht drohnenbrütigen Königin stammenden; erstere unterscheiden sich von letzteren nicht, sind also ebenso begattungsfähig wie jene.

Beweise für das Unbefruchtetsein auch der »normalen« Drohneneier sind folgende:

In allen eben in Arbeiterinnenzellen abgelegten Eiern findet man meist mehrere Spermatozoen, in etwas älteren Eiern deutliche Spermastrahlungen und in ungefähr 4 Stunden alten Eiern die Kopulation des weiblichen Vorkernes mit einem männlichen. In Eiern aus Drohnenzellen findet man weder Spermatozoen, noch Spermastrahlungen, noch kopulierende Vorkerne.

In Eiern aus Drohnenzellen liegt die erste Furchungsspindel an einer andern Stelle als in den befruchteten Eiern. In diesen wandert der gereifte Eikern ins Eiinnere, wo er sehr bald auf einen männlichen Vorkern trifft; an der Stelle, wo die Kopulation der beiden Vorkerne erfolgt, also meist ganz in der Nähe des Richtungsplasmas, bildet sich auch die erste Furchungsspindel aus. In den unbefruchteten Eiern wandert der gereifte Eikern ebenfalls ins Eiinnere. Da er aber hier nicht von einem männlichen Vorkern aufgehalten wird, wandert er quer durch das ganze Ei bis zu dem dem Richtungsplasma gegenüberliegenden (konkaven) Eirande. Erst hier wandelt er sich in die erste Furchungsspindel um.

Die Furchungsspindeln der unbefruchteten Eier enthalten nur die haploide Chromosomenzahl (16), die der befruchteten natürlich die diploide (32). Infolgedessen muß in der Spermatogenese die Reduktionsteilung unterbleiben.

Die bisherigen Widersprüche in den Angaben über die Chromosomenzahlen bei der Honigbiene (Petrunkewitsch-Meves) sind darauf zurückzuführen, daß es Petrunkewitsch entgangen war, daß die Chromosomen der Reifungsteilungen Sammelchromosomen darstellen, die nach der Reifung in den befruchteten wie in den unbefruchteten Eiern wieder in Chromosomen von niedrigerer Wertigkeit zerfallen.

In die erste Richtungsspindel des Eies treten acht Tetraden ein, in der zweiten Richtungsspindel zählt man in der Äquatorialplatte acht Dyaden, auf den gereiften Eikern kommen acht Chromosomen, die aber zweiwertig sind und regelmäßig vor der Furchung in einwertige Elemente zerfallen. Die Furchungsspindeln der unbefruchteten Eier enthalten

daher 16, die der befruchteten 32 Chromosomen. Dieselben Chromosomenzahlen (16 bzw. 32) konstatiert man gewöhnlich in den Blastodermspindeln. Die normale Chromosomenzahl der Honigbiene ist demnach 32, die reduzierte also 16. Außerdem kommen aber noch mehr- bzw. geringerwertige Chromosomen vor, und zwar die Chromosomenzahlen 8, 32 (in unbefruchteten Eiern) und 64.

Mehrwertig sind die Chromosomen der weiblichen Geschlechtszellen, und zwar erfolgt die Chromosomenkoppelung in diesen bereits auf einem sehr frühen Stadium. In den Ovogonienteilungen finden wir 16 zweiwertige Chromosomen. Da in den männlichen Geschlechtszellen keine Sammelchromosomen gebildet werden, weisen die Spermatogonienteilungen ebenfalls 16 Chromosomen auf. Daß aber jedes Chromosom der Ovogonienmitosen tatsächlich die doppelte Wertigkeit eines Chromosoms der Spermatogonienmitosen besitzt, geht aus dem späteren Verhalten der beiden Chromosomen, speziell bei der Befruchtung, unzweideutig hervor: ein Spermakern mit 16 Chromosomen vereinigt sich mit einem Eikern mit acht Chromosomen, die allerdings dann zu Beginn der Furchung ebenfalls in 16 einwertige Elemente zerfallen. Übrigens zeigen auch die Chromosomen der männlichen Geschlechtszellen vielfach die Tendenz, im Laufe der Spermatocytenteilungen paarweise sich zu vereinigen. In der Anaphase der zweiten Spermatocytenteilung zählt man häufig nur acht Chromosomen in jeder Polplatte; bei den meisten zeigt jedoch eine genaue Untersuchung, daß sie aus je zwei Chromosomen zusammengesetzt sind. Anderseits kann in den weiblichen Geschlechtszellen die Chromosomenkoppelung gelegentlich unterbleiben, sodaß dann — allerdings scheinen diese Fälle sehr selten zu sein — die Äquatorialplatte der ersten Richtungsspindel 16 Tetraden enthält und 16 Chromosomen in den weiblichen Vorkern kommen.

In den somatischen Zellen kann eine weitere Erhöhung der Chromosomenzahl stattfinden, indem alle Chromosomen in geringerwertige Elemente zerfallen. Fassen wir die Befunde über die Chromosomenzahl zusammen: Bei der Honigbiene wechselt die Chromosomenzahl, aber sie beträgt immer acht oder ein Vielfaches dieser Zahl. 32 können wir als die »Normalzahl« betrachten.

Zur Zeit der Ablage des Bieneneies ist in dem Keimbläschen bereits die erste Richtungsspindel ausgebildet. Die Polplatten der ersten Richtungsspindel bestehen aus je acht nahezu gleichgroßen Dyaden.

In allen Eiern verlaufen die Reifungsteilungen in gleicher Weise: An die erste Reifungsteilung schließt sich unmittelbar die zweite an.

Während der zweiten Reifungsteilung teilt sich auch der erste Richtungskörper, so daß vier Chromatingruppen entstehen, die aus je acht ungefähr gleichgroßen Chromosomen zusammengesetzt sind. Die innerste Chromatingruppe bildet sich sehr bald zum weiblichen Vorkern um. Die beiden mittleren Chromatingruppen, zweiter Richtungskörper und centrale Hälfte des ersten, verschmelzen miteinander zu dem sogenannten »Richtungskopulationskern«, der jedoch niemals einen eigentlichen Kern ein Kernbläschen, darstellt. Die äußere Chromatingruppe, die periphere Hälfte des ersten Richtungskörpers, verschwindet in allen Eiern sehr bald.

Die in Arbeiterinnenzellen abgesetzten Eier sind gewöhnlich polysperm befruchtet. Man findet meist drei bis sieben Spermatozoen in einem Ei. Alle in das Ei eingedrungenen Spermatozoen wandeln sich unter Erzeugung einer Spermastrahlung in männliche Vorkerne um, von denen aber *immer nur einer mit dem weiblichen Vorkern kopuliert. Die übrigen Spermakerne haben keine weitere Bedeutung mehr.* Sie machen zwar den Versuch sich zu teilen, gehen dann aber sehr bald zugrunde.

Der »Richtungskopulationskern« bildet sich in allen Eiern zu einer Spindel um, die sich teilen und so zwei Tochterspindeln liefern kann. Häufig teilen sich diese Tochterspindeln noch weiter. *Eine weitere Bedeutung kommt indessen auch diesen Derivaten der Richtungskörper nicht mehr zu, sie verfallen schließlich der Degeneration.* Ihre letzten Spuren verschwinden im Blastodermstadium, und zwar in den unbefruchteten Eiern in gleicher Weise wie in den befruchteten.

Was die Kern- und Zellgröße in den befruchteten und unbefruchteten Bieneneiern anbetrifft, so lassen sich die von Boveri *aufgestellten Gesetze:* »Die Kernoberfläche ist der Chromosomenzahl direkt proportional« und »die Größe der Larvenzellen ist eine Funktion der in ihnen enthaltenen Chromatinmengen, und zwar ist das Zellvolumen der Chromosomenzahl direkt proportional« *nicht ohne weiteres auf die Honigbiene anwenden.* Kerne gleichen Entwicklungsstadiums zeigen zwar gewisse Unterschiede in der Größe im befruchteten und im unbefruchteten Ei, aber diese Unterschiede sind keine gesetzmäßigen. Wenn man indessen bedenkt, daß die Boverischen Gesetze auch für Echinodermen nur unter gleichen Bedingungen Geltung haben, und daß ein Insektenei bei seiner ungleichen Verteilung des Plasmas und seinem Reichtum an den verschiedensten

Nährsubstanzen ganz andre Verhältnisse darbietet als ein Seeigelei, so kann diese Feststellung nicht weiter verwunderlich erscheinen.

Während im Verlauf der Reifungsteilungen Centrosomen und Centriolen sowie eine Plasmastrahlung niemals zu beobachten sind, sind diese Gebilde während der Furchung und Blastodermbildung in befruchteten und unbefruchteten Eiern immer nachweisbar. Die Herkunft der Centriolen der ersten Furchungsspindel konnte zwar weder für die befruchteten noch für die unbefruchteten Eier ermittelt werden; da aber die Centriolen — und ebenso die Centrosomen — der ersten Furchungsspindel wie aller übrigen im Drohnenei sich in keiner Weise von denen der Furchungsspindeln im Arbeiterinnenei unterscheiden, so liegt die Vermutung nahe, daß auch die Centrosomen und Centriolen der befruchteten Eier nicht vom Spermatozoon stammen.

Nachschrift.

Während der Drucklegung der Arbeit erschien eine Abhandlung Granatas: «Ancora sulle divisioni degli spermatociti di *Xylocopa violacea* L.». Angeregt durch die Veröffentlichung Armbrusters hat Granata seine Beobachtungen aus dem Jahre 1909 nachgeprüft und ergänzt. Das Resultat zeigt wieder die Unhaltbarkeit der Ansichten Armbrusters: «L'unica divisione nucleare è equazionale e il numero dei cromosomi degli spermatogoni (16) passa non ridotto nello spermatide. Lo schema della maturazione delle cellule sessuali di *Xylocopa* può così ricondursi a quello dell' Ape, quale risulta dalle ricerche di Meves e di Nachtsheim.»

Da die meisten Chromosomen bei *Xylocopa* kurze Stäbchen darstellen, während sie bei *Osmia* und *Apis* fast alle kugelrund sind, so ist ersteres Objekt zur Entscheidung der Frage, ob eine Reduktions-, ob eine Äquationsteilung erfolgt, geeigneter als die beiden letzteren, zumal da eine Chromosomenkoppelung im Verlauf der Spermatocytenteilungen dort nicht die Regel zu sein scheint oder doch nur in beschränkterem Maße vorkommt als bei *Osmia* und *Apis*. Im übrigen sind die Einwände, die Granata gegen Armbruster erhebt, genau die gleichen, die ich ihm bereits oben gemacht habe.

Wie sehr die Chromosomenzahl bei der Honigbiene wechseln kann, möge noch eine Beobachtung illustrieren, die ich nach Abschluß der vorliegenden Untersuchungen gemacht habe. Alle bis dahin von mir untersuchten Ovogonienmitosen — es standen mir ungefähr ein Dutzend

Königinnen zur Verfügung — wiesen (s. Seite 212 u. Fig. 63) 16 Chromosomen auf; es war also hier die Chromosomenkoppelung bereits erfolgt. Bei der Fortsetzung meiner Untersuchungen über die Eibildung bei der Honigbiene[1]) aber fand ich ein Ovar, in dem die Ovogonienmitosen, welche in großer Zahl vorhanden waren, alle 32 Chromosomen enthielten. Ist die Chromosomenkoppelung nicht noch auf einem späteren Stadium erfolgt, so mußten die Reifungsspindeln ebenfalls die doppelte Chromosomenzahl besitzen, ein Fall, den ja Petrunkewitsch an einigen Eiern beobachtet hat.

Einen ähnlichen chromatischen Körper ("chromatoid body"), wie ihn Doncaster in der Spermatogenese der Gallwespen beschrieben hat und auch andre Autoren bei andern Objekten gefunden haben (s. Seite 227), beschreibt Wilson (1913) in der Spermatogenese von *Pentatoma*. Wilson hat das Schicksal dieses Körpers verfolgt und kommt zu dem Resultat, daß er an der Bildung des Spermatozoons keinen Anteil hat, sondern innerhalb einer Protoplasmamasse ausgestoßen wird. Ein ähnliches Verhalten dürfte auch dem "extranuclear body" in den Spermatocyten der Gallwespen zukommen, und damit ist die Vermutung Doncasters, daß er für die Geschlechtsbestimmung von Bedeutung sein könnte, hinfällig. Natur und Bedeutung des "chromatoid body", der bei Insekten und auch in andern Tiergruppen nicht selten zu sein scheint, und dessen Verhalten nach Wilson leicht Anlaß zur Verwechselung mit einem accessorischen Chromosom geben kann, vielleicht bereits gegeben hat, bleiben vorläufig problematisch.

Literaturverzeichnis.

Adam, A. 1912. Bau und Mechanismus des Receptaculum seminis bei den Bienen, Wespen und Ameisen. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XXXV.

Armbruster, L. 1913. Über die Chromatinverhältnisse bei solitären Bienen und ihre Beziehung zur Frage der Geschlechtsbestimmung. Ber. Naturf. Ges. Freiburg i. Br. Bd. XX.

Bachmetjew, P. 1903. Ein Versuch, die Frage über die Parthenogenese der Drohnen mittels der analytisch-statistischen Methode zu lösen. Allg. Zeitschr. Entom. Bd. VIII.

—— 1910. Analytisch-statistische Untersuchungen über die Anzahl der Flügelhaken bei Bienen und die daraus hervorgehenden Konsequenzen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XCIV.

[1]) Ganz ähnliche Verhältnisse, wie ich sie auf S. 211 f. für *Apis* kurz geschildert habe, finden sich nach Maziarski (1913) auch bei *Vespa*.

Baehr, W. B. v. 1909. Die Oogenese bei einigen viviparen Aphididen und die Spermatogenese von Aphis saliceti, mit besonderer Berücksichtigung der Chromatinverhältnisse. Arch. f. Zellf. Bd. III.

Beard, J. 1902. The determination of sex in animal development. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XVI.

Berlepsch, A. v. 1852 ff. Zahlreiche Abhandlungen in der Eichstädter Bienenz. 8. Jahrg. u. ff.

Bessels, E. 1868. Die Landoissche Theorie widerlegt durch das Experiment. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XVIII.

Blochmann, F. 1886. Über die Reifung der Eier bei Ameisen und Wespen. Festschrift Naturh. Mediz. Ver. Heidelberg.

—— 1889. Über die Zahl der Richtungskörper bei befruchteten und unbefruchteten Bieneneiern. Morph. Jahrb. Bd. XV.

Boveri, Th. 1887. Über den Anteil des Spermatozoon an der Teilung des Eies. Sitz.-ber. Ges. Morph. Phys. München. Bd. III.

—— 1905. Zellenstudien, Hft. V. Über die Abhängigkeit der Kerngröße und Zellenzahl der Seeigellarven von der Chromosomenzahl der Ausgangszellen. Jena.

Braun, H. 1909. Die specifischen Chromosomenzahlen der einheimischen Arten der Gattung Cyclops. Arch. f. Zellf. Bd. III.

Bresslau, E. 1905. Der Samenblasengang der Bienenkönigin (Studien über den Geschlechtsapparat und die Fortpflanzung der Bienen. I.). Zool. Anz. Bd. XXIX.

—— 1908a. Die Dickelschen Bienenexperimente. (Studien über usw. II.) Zool. Anz. Bd. XXXII.

—— 1908b. Über die Versuche zur Geschlechtsbestimmung der Honigbiene. Zu Dickels, v. Buttels und meinen Bienenexperimenten. Zool. Anzeig. Bd. XXXIII.

Buttel-Reepen, H. v. 1903. Aus dem Leben der Honigbiene. Allg. Zeitschr. Entom. Bd. VIII.

—— 1904. Über den gegenwärtigen Stand der Kenntnisse von den geschlechtsbestimmenden Ursachen bei der Honigbiene (Apis mellifica L.), ein Beitrag zur Lehre von der geschlechtlichen Präformation. Verh. deutschen zool. Ges. 14. Vers.

—— 1905. Die Ursachen der Geschlechtsbestimmung bei der Honigbiene und die analytisch-statistische Methode. Zeitschr. wiss. Insektenbiol. Bd. I. (1. Folge, Bd. X.)

—— 1908. Zur Fortpflanzungsgeschichte der Honigbiene. Zool. Anz. Bd. XXXIII.

Castle, W. E. 1903. The heredity of sex. Bull. Museum Comp. Zool. Harvard Coll. Vol. XL. Nr. 4.

—— 1904. Sex determination in Bees and Ants. Science, N. S. Vol. XIX.

Cook 1879. Parthenogenesis in the Honey Bee. Amer. Natural. Vol. XIII.

Crawley, W. C. 1911. Parthenogenesis in worker Ants, with special reference to two colonies of Lasius niger. Trans. Entom. Soc. London.

Cuénot, L. 1909. Les mâles d'abeilles proviennent-ils toujours d'œufs parthénogénétiques? Bull. scient. France Belgique. Tome XLIII. Sér. 7. Vol. 1.

Dickel, F. 1898. Das Prinzip der Geschlechtsbildung bei Tieren geschlechtlicher Fortpflanzung, entwickelt auf Grundlage meiner Bienenforschungen. Nördlingen.

Dickel, F. 1901. Meine Ansicht über die Freiburger Untersuchungsergebnisse von Bieneneiern. Tatsachen entscheiden, nicht Ansichten. Anat. Anz. Bd. XIX.

—— 1902. Über Petrunkewitschs Untersuchungsergebnisse von Bieneneiern. Über die Entwicklungsweise der Honigbiene. Zool. Anz. Bd. XXV.

—— 1903. Die Ursachen der geschlechtlichen Differenzierung im Bienenstaat. Arch. ges. Phys. Bd. XCV.

—— 1908. Zur Frage nach der Geschlechtsbestimmung der Honigbiene. Zu E. Bresslaus Bienenexperimenten. Zool. Anz. Bd. XXXIII.

—— 1909. Weitere Beiträge zur Frage nach der Geschlechtsbestimmung bei der Honigbiene. Fortsetzung der Beiträge zur Geschlechtsbestimmungsfrage bei der Honigbiene. Zool. Anz. Bd. XXXIV.

—— 1910. Über das Geschlecht der Bienenlarven. Zool. Anz. Bd. XXXVI.

Dickel, O. 1904. Entwicklungsgeschichtliche Studien am Bienenei. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXVII.

Doncaster, L. 1906a. On the maturation of the unfertilized egg and the fate of the polar bodies in the Tenthredinidae (Sawflies). Quart. Journ. micr. Sc. Vol. XLIX.

—— 1906b. Spermatogenesis of the Hive Bee (Apis mellifica). Anat. Anz. Bd. XXIX.

—— 1907a. Gametogenesis and fertilisation in Nematus ribesii. Quart. Journ. mic. Sc. Vol. LI.

—— 1907b. Spermatogenesis of the Honey Bee. Anat. Anz. Bd. XXXI.

—— 1909. Gametogenesis of the Sawfly Nematus ribesii. A correction. Nature. Vol. LXXXII. Science. Vol. XXXI.

—— 1910—11. Gametogenesis of the Gallfly, Neuroterus lenticularis (Spathegaster baccarum). Parts I and II. Proc. Roy. Soc. B. Vol. LXXXII and LXXXIII.

Dzierzon. J 1845ff. Zahlreiche Abhandlungen in der Eichstädter Bienenz. 1. Jahrgang u. ff.

—— 1848. Theorie und Praxis des neuen Bienenfreundes. Brieg.

Emery, C. 1910. Considerazioni intorno alla regola del Dzierzon sulla determinazione del sesso nelle Api e in altri Imenotteri. Rend. Sess. R. Accad. Sc. Bologna. Nuova Serie. Vol. XIV.

Erdmann, Rhoda. 1908. Experimentelle Untersuchung der Massenverhältnisse von Plasma, Kern und Chromosomen in dem sich entwickelnden Seeigelei. Arch. f. Zellf. Bd. II.

Erlanger, R. v. und Lauterborn, R. 1897. Über die ersten Entwicklungsvorgänge im parthenogenetischen und befruchteten Rädertierei (Asplanchna priodonta). Zool. Anz. Bd. XX.

Fabre, J. H. 1890. Souvenirs entomologiques. Etudes sur l'instinct et les mœurs des Insectes (3. série). Paris.

Fielde, Adele M. 1905. Observations on the progeny of virgin Ants. Biol. Bull. Vol. IX.

Giglio-Tos, E. 1905. Della partenogenesi e della spermatogenesi nell' ape. Anat. Anz. Bd. XXVI.

Girard, M. 1878. Sur les pontes des abeilles. C. r. Acad. Sc. Tome LXXXVII.

Godlewski, E. 1913. Physiologie der Zeugung. In: Winterstein, H., Handbuch der vergleichenden Physiologie. Bd. III. 2. Hälfte. Jena.

Goldschmidt, R. 1910. Kleine Beobachtungen und Ideen zur Zellenlehre. I. 1. Accessorisches Chromosom und Geschlechtsbestimmung. Arch. f. Zellf. Bd. VI.

—— 1911. Einführung in die Vererbungswissenschaft. Leipzig.

—— 1912a. Erblichkeitsstudien an Schmetterlingen I. 1. Untersuchungen über die Vererbung der sekundären Geschlechtscharaktere und des Geschlechts. Zeitschr. ind. Abst. Vererbungsl. Bd. VII.

—— 1912b. Die Merogonie der Oenotherabastarde und die doppeltreziproken Bastarde von de Vries. Arch. f. Zellf. Bd. IX.

—— (Correns-Goldschmidt). 1913. Die Vererbung und Bestimmung des Geschlechtes. Berlin.

Granata, L. 1909. Le divisioni degli spermatociti di Xylocopa violacea L. Biol. (Torino). Vol. II.

—— 1913. Ancora sulle divisioni degli spermatociti di »Xylocopa violacea L.« Monit. Zool. Ital. Anno XXIV.

Günthert, Th. 1910. Die Eibildung der Dytisciden. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XXX.

Häcker, V. 1907. Die Chromosomen als angenommene Vererbungsträger. Erg. Fortschr. Zool. Bd. I.

—— 1912. Allgemeine Vererbungslehre. Braunschweig.

Henking, H. 1892. Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge in den Eiern der Insekten. III. Spezielles und Allgemeines. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LIV.

Hertwig, R. 1912. Über den derzeitigen Stand des Sexualitätsproblems nebst eignen Untersuchungen. Biol. Centralbl. Bd. XXXII.

Hewitt, C. G. 1906. The cytological aspect of parthenogenesis in Insects. Mem. Proc. Manchester lit. philos. Soc. Vol. L.

Holliday, Margaret. 1904. A study of some ergatogynic ants. Zool. Jahrb., Syst. Bd. XIX.

Janet, Ch. 1909. Sur la parthénogénèse arrhénotoque de la fourmi ouvrière. Mém. Soc. Acad. Oise.

Kern, P. 1912. Über die Fortpflanzung und Eibildung bei einigen Caraben. Zool. Anz. Bd. XL.

Kleine, G. 1867. Über das Gesetz der Entwicklung der Geschlechter bei den Insekten. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XVII.

Köhler, O. 1912. Über die Abhängigkeit der Kernplasmarelation von der Temperatur und vom Reifezustand der Eier. Experimentelle Untersuchungen an Strongylocentrotus lividus. Arch. f. Zellf. Bd. VIII.

Kostanecki, K. 1904. Cytologische Studien an künstlich parthenogenetisch sich entwickelnden Eiern von Mactra. Arch. mikr. Anat. Entwicklungsgesch. Bd. LXIV.

—— 1906. Über die Herkunft der Teilungscentren der ersten Furchungsspindel im befruchteten Ei. Arch. mikr. Anat. Entwicklungsgesch. Bd. LXVIII.

Lams, H. 1908. Les divisions des spermatocytes chez la fourmi (Camponotus herculeanus L.). Arch. f. Zellf. Bd. I.

Landois, H. 1867. Über das Gesetz der Entwicklung der Geschlechter bei den Insekten. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XVII.

Lenhossék, M. v. 1903. Das Problem der geschlechtsbestimmenden Ursachen. Jena.

Leuckart, R. 1855. Bericht über Zergliederung einer unbefruchtet ein- und durchgewinterten Bienenkönigin. Eichstädter Bienenz. Jahrg. XI.

LEUCKART, R. 1857. Sur l'arrénotokie et la parthénogénèse des abeilles et des autres Hymenoptères qui vivent en société. Bull. Acad. Sc. Belgique. 2. sér. Tome III.

—— 1858. Zur Kenntnis des Generationswechsels und der Parthenogenesis bei den Insekten. MOLESCHOTTS Unters. Naturl. Menschen Tiere. Bd. IV.

LILLIE, F. R. 1912. Studies of fertilization in Nereis. IV. The fertilization power of portions of spermatozoön. Journ. Exp. Zoöl. Vol. XII.

LOWE, J. 1867. Observations on DZIERZONS theory of reproduction in the Honey Bee. Trans. Entom. Soc. London. Vol. V.

MARCHAL, P. 1904. Recherches sur la biologie et le développement des Hyménoptères parasites. I. La polyembryonie spécifique ou germinogonie. Arch. Zool. exp. gén. 4. sér. Tome II.

MARCUS, H. 1906. Über die Wirkung der Temperatur auf die Furchung bei Seeigeleiern. Arch. Entwicklungsmech. Bd. XXII.

MARK, E. L. and COPELAND, M. 1906. Some stages in the spermatogenesis of the Honey Bee. Proc. Amer. Acad. Arts Sc. Vol. XLII.

—— 1907. Maturation stages in the spermatogenesis of Vespa maculata L. Proc. Amer. Acad. Arts Sc. Vol. XLIII.

MAZIARSKI, ST. 1913. Sur la persistance de résidus fusoriaux pendant les nombreuses générations cellulaires au cours de l'ovogenèse de Vespa vulgaris L. Arch. f. Zellf. Bd. X.

MEVES, FR. 1904. Über »Richtungskörperbildung« im Hoden von Hymenopteren. Anat. Anz. Bd. XXIV.

—— 1907. Die Spermatocytenteilungen bei der Honigbiene (Apis mellifica L.). nebst Bemerkungen über Chromatinreduktion. Arch. mikr. Anat. Entwicklungsgesch. Bd. LXX.

MEVES, FR. und DUESBERG, J. 1908. Die Spermatocytenteilungen bei der Hornisse (Vespa crabro L.). Arch. mikr. Anat. Entwicklungsgesch. Bd. LXXI.

MONTGOMERY, jun., TH. H. 1908. On the maturation mitoses and fertilization of the egg of Theridium. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XXV.

MORGAN, TH. H. 1912. The elimination of the sex chromosomes from the male-producing eggs of Phylloxerans. Journ. Exp. Zool. Vol. XII.

MULSOW, K. 1912. Der Chromosomencyclus bei Ancyracanthus cystidicola Rud. Arch. f. Zellf. Bd. IX.

NACHTSHEIM, H. 1912. Parthenogenese, Eireifung und Geschlechtsbestimmung bei der Honigbiene. Sitzungsber. Ges. Morph. Phys. München.

PAULCKE, W. 1899. Zur Frage der parthenogenetischen Entstehung der Drohnen (Apis mellifica ♂). Anat. Anz. Bd. XVI.

—— 1900. Über die Differenzierung der Zellelemente im Ovarium der Bienenkönigin. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XIV.

PEREZ, J. 1878a. Observations sur la parthénogénèse de l'abeille reine, infirmant la théorie de DZIERZON. Act. Soc. Linn. Bordeaux. Tome XXXII.

—— 1878b. Mémoire sur la ponte de l'abeille reine et la théorie de DZIERZON. Ann. Sc. nat. 6. sér. Zool. Tome VII.

—— 1879. Réflexion sur les observations de M. MATTER, de Payerne (Suisse), à propos de la théorie de DZIERZON. Act. Soc. Linn. Bordeaux. Vol. XXXIII.

PETRUNKEWITSCH, A. 1901. Die Richtungskörper und ihr Schicksal im befruchteten und unbefruchteten Bienenei. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XIV.

PETRUNKEWITSCH, A. 1903. Das Schicksal der Richtungskörper im Drohnenei. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XVII.

PFLÜGER, E. 1882. Über die das Geschlecht bestimmenden Ursachen und die Geschlechtsverhältnisse der Frösche. Arch. ges. Phys. Bd. XXIX.

—— 1903. Über die jungfräuliche Zeugung der Bienen. Arch. ges. Phys. Bd. XCIX.

PHILLIPS, E. F. 1903. A review of parthenogenesis. Proc. Amer. phil. Soc. Vol. XLII.

RATH, O. VOM. 1894. Über abnorme Zustände im Bienenstock. Ber. Naturf. Ges. Freiburg i. Br. Bd. VIII.

REICHENBACH, H. 1902. Über Parthenogenese bei Ameisen und andre Beobachtungen an Ameisenkolonien in künstlichen Nestern. Biol. Centralbl. Bd. XXII.

RÜCKERT, J. 1891a. Über die Befruchtung bei Elasmobranchiern. Verh. Anat. Ges., 5. Vers.

—— 1891b. Zur Befruchtung des Selachiereies. Anat. Anz. Bd. VI.

—— 1910. Über Polyspermie. Anat. Anz. Bd. XXXVII.

SALING, TH. 1907. Zur Kenntnis der Entwicklung der Keimdrüsen von Tenebrio molitor L. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXXVI.

SANSON, A. 1868. Sur les conditions déterminantes des sexes chez les abeilles. C. r. Acad. Sc. Tome LXVI.

—— 1878. Note sur la parthénogenèse chez les abeilles. Ann. Sc. nat. 6. sér. Zool. Tome VII.

SANSON, A. et BASTIAN, F. 1868. Expériences sur la transposition des œufs d'abeille, au point de vue des conditions déterminantes des sexes. C. r. Acad. Sc. Tome LXVII.

SCHÄFER, F. 1907. Spermatogenese von Dytiscus. Ein Beitrag zur Frage der Chromatinreduktion. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XXIII.

SCHLEIP, W. 1908. Die Richtungskörperbildung im Ei von Formica sanguinea. Zool. Jahrb. Anat. Bd. XXVI.

—— 1909. Die Reifung des Eies von Rhodites rosae L. und einige allgemeine Bemerkungen über die Chromosomen bei parthenogenetischer Fortpflanzung. Zool. Anz. Bd. XXXV.

—— 1912. Geschlechtsbestimmende Ursachen im Tierreich. Erg. Fortschr. Zool. Bd. III.

SCHULTZE, O. 1904. Zur Frage von den geschlechtsbildenden Ursachen. Arch. mikr. Anat. Entwicklungsgesch. Bd. LXIII.

SEILER, J. 1913. Das Verhalten der Geschlechtschromosomen bei Lepidopteren Zool. Anz. Bd. XLI.

SHEARER, C. 1912. The problem of sex determination in Dinophilus gyrociliatus Part. I. The sexual cycle. Quart. Journ. micr. Sc. Vol. LVII.

SIEBOLD, C. TH. E. v. 1854. Zergliederung einer vom Begattungsausfluge heimgekehrten Bienenkönigin. Eichstädter Bienenz. 10. Jahrg.

—— 1856. Wahre Parthenogenesis bei Schmetterlingen und Bienen. Ein Beitrag zur Fortpflanzungsgeschichte der Tiere. Leipzig.

—— 1867. Zusatz zu LANDOIS' Mitteilung »Über das Gesetz der Entwicklung der Geschlechter bei den Insekten.« Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XVII.

—— 1870. Über die Parthenogenesis der Polistes gallica. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XX.

—— 1871. Beiträge zur Parthenogenesis der Arthropoden. Leipzig.

Silvestri, F. 1906 e 08. Contribuzioni alla conoscenza biologica degli Imenotteri parassiti. I. Biologia del Litomastix truncatellus (Dalm.). II. Sviluppo dell'Ageniaspis fuscicollis (Dalm.). III. Sviluppo dell'Encyrtus aphidivorus Mayr. IV. Sviluppo dell'Oophthora semblidis Aur. Boll. Scuola sup. Agric. Portici. Vol. I e III.

Strasburger, E. 1909. Zeitpunkt der Bestimmung des Geschlechts, Apogamie, Parthenogenesis und Reduktionsteilung. Histol. Beitr. Hft. 7.

—— 1910. Chromosomenzahl. Flora. Bd. C.

Taschenberg, O. 1892. Historische Entwicklung der Lehre von der Parthenogenesis. Abhandl. Naturf. Ges. Halle. Bd. XVII.

Wasmann, E. 1895. Die ergatogynen Formen bei den Ameisen und ihre Erklärung. Biol. Centralbl. Bd. XV.

Weismann, A. 1900. Über die Parthenogenese der Bienen. Anat. Anz. Bd. XVIII.

—— 1901. Bemerkung zu dem Aufsatz des Herrn Dickel »Meine Ansicht über die Freiburger Untersuchungsergebnisse von Bieneneiern.« Anat. Anz. Bd. XIX.

Wheeler, W. M. 1903. The origin of female and worker Ants from the egg of parthenogenetic workers. Science, N. S. Vol. XVIII.

—— 1904. Dr. Castle and the Dzierzon theory. Science, N. S. Vol. XIX.

Whitney, D. D. 1909. Observations on the maturation stages of the parthenogenetic and sexual eggs of Hydatina senta. Journ. Exp. Zoöl. Vol. VI.

Wilson, E. B. 1913. A chromatoid body simulating an accessory chromosome in Pentatoma. Biol. Bull. Vol. XXIV.

Erklärung der Abbildungen.

Sämtliche Figuren wurden unter Benutzung des Abbeschen Zeichenapparates bei Projektion auf Objekttischhöhe und bei 160 mm Tubuslänge entworfen.

Tafel VII.

Alle Figuren der Taf. VII wurden mit Zeiss' Apochromat-Immersion 2 mm und Kompensationsocular 12 gezeichnet.

Fig. 1. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Die erste Richtungsspindel (Anaphase) noch innerhalb der Kernmembran und fast parallel zur Oberfläche des Eies.

Fig. 2. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Die erste Richtungsspindel ungefähr senkrecht zur Oberfläche des Eies.

Fig. 3. Ei aus Drohnenzelle. Erste Richtungsspindel. — Die Spindel beginnt sich in die Länge zu ziehen, die Kernmembran ist zerrissen.

Fig. 4. Ei aus Drohnenzelle. Erste Richtungsspindel. — Die Spindel hat sich bereits stark in die Länge gezogen und dabei ein wenig spiralig gedreht, Überreste der Kernmembran sind an der inneren Polplatte noch sichtbar.

Fig. 5. Ei aus Drohnenzelle. Zerreißen der ersten und Anlage der zweiten Richtungsspindel. — Aus zwei Schnitten kombiniert.

Fig. 6. Ei aus Drohnenzelle. Zweite Richtungsspindel und Spindel des ersten Richtungskörpers, Metaphase.

Fig. 7. Ei aus Weiselzelle. Zweite Richtungsspindel und Spindel des ersten Richtungskörpers, Anaphase. — Aus zwei Schnitten kombiniert.

Fig. 8. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Zweite Richtungsspindel und Spindel des ersten Richtungskörpers. In beiden Spindeln haben sich die Tochterchromosomen bereits stark zusammengeballt. — Aus zwei Schnitten kombiniert.

Fig. 9. Ei aus Drohnenzelle. Zweite Richtungsspindel und Spindel des ersten Richtungskörpers. Zerreißen der Spindel des Richtungskörpers, die Chromosomen sind hier noch nicht so stark zusammengeballt wie in der vorigen Figur. — Aus drei Schnitten kombiniert.

Fig. 10. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Durch Zerreißen der zweiten Richtungsspindel entstehen vier Chromatingruppen. — Aus drei Schnitten kombiniert.

Fig. 11. Ei aus Drohnenzelle. Die innerste Chromatingruppe hat sich zum weiblichen Pronucleus umgebildet, der ins Eiinnere zu wandern beginnt. Die beiden mittleren Chromatingruppen, zweiter Richtungskörper und centrale Hälfte des ersten, rücken aufeinander zu. Die äußere Chromatingruppe, die periphere Hälfte des ersten Richtungskörpers, beginnt zu degenerieren. — Aus drei Schnitten kombiniert.

Fig. 12. Ei aus Arbeiterinnenzelle, das gleich nach der Ablage fixiert wurde. Das Spermatozoon ist noch kaum verändert. — Aus zwei Schnitten kombiniert.

Fig. 13. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Der Kopf des Spermatozoons beginnt aufzuquellen und zeigt eine spiralige Drehung. — Aus zwei Schnitten kombiniert.

Fig. 14. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Das Chromatin des Kopfes ist weiter aufgequollen und sammelt sich an den beiden Enden des Kopfes. Es beginnt sich eine Plasmastrahlung auszubilden. — Aus zwei Schnitten kombiniert.

Tafel VIII.

Alle Figuren der Taf. VIII außer den Fig. 17, 19 und 20 wurden mit Zeiss' Apochromat-Immersion 2 mm und Kompensationsocular 12 gezeichnet. Die Fig. 17, 19 und 20 wurden mit Zeiss' Achromat-Objektiv C und Ocular 3 gezeichnet.

Fig. 15. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Das Chromatin hat sich an den beiden Enden des Kopfes angesammelt, eine Verbindung bleibt indessen erhalten. Die Plasmastrahlung wird kräftiger.

Fig. 16. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Das Chromatin hat sich zu einem Klumpen zusammengeballt, der Schwanzfaden wird resorbiert. Die Strahlung hat den Höhepunkt ihrer Entwicklung erreicht.

Fig. 17. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Dasselbe Stadium wie das in der vorigen Figur wiedergegebene bei schwächerer Vergrößerung. Es sind zwei Spermastrahlungen getroffen.

Fig. 18. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Kopulation der Pronuclei.

Fig. 19. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Dasselbe Stadium wie das in der vorigen Figur wiedergegebene bei schwächerer Vergrößerung. Die Figur zeigt, wo die Kopulation der Pronuclei stattfindet, es ist zugleich die Stelle, wo sich die erste Furchungsspindel ausbildet. Links sieht man das Richtungsplasma mit dem »Richtungskopulationskern«.

Fig. 20. Ei aus Drohnenzelle. Der gereifte Eikern ist quer durch das Ei gewandert und liegt nun nahezu am Rande auf der konkaven Seite des Eies, wo er sich in die erste Furchungsspindel umwandelt. Eine Plasmastrahlung ist nicht vorhanden. Rechts sieht man das Richtungsplasma.

Fig. 21. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Zweiter Richtungskörper und centrale Hälfte des ersten Richtungskörpers kurz vor der Verschmelzung. Die periphere Hälfte des ersten Richtungskörpers degeneriert.

Fig. 22. Ei aus Drohnenzelle. Der »Richtungskopulationskern« und die degenerierende periphere Hälfte der ersten Richtungskörpers.

Fig. 23. Ei aus Drohnenzelle. Der »Richtungskopulationskern« bildet sich zur Spindel um.

Fig. 24. Ei aus Drohnenzelle. Spindel des »Richtungskopulationskernes«, Anaphase. Die Chromosomen sind unregelmäßig über die Spindel verstreut, ihre Zahl beträgt ungefähr 32.

Fig. 25. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Spermakern in Teilung.

Fig. 26—32. Teilung eines Furchungskernes im unbefruchteten Ei.

Fig. 26. Ei aus Drohnenzelle. Furchungskern kurz vor der Teilung mit großen Centrosomen und Centriolen.

Fig. 27. Ei aus Drohnenzelle. Anlage der Spindel innerhalb der Kernmembran.

Fig. 28. Ei aus Drohnenzelle. Das Spirem ist bereits vollständig in den Bereich der Spindel gezogen, das Chromatin hat sich verdichtet.

Fig. 29. Ei aus Drohnenzelle. Furchungsspindel, Äquatorialplatte mit etwa 16 Chromosomen.

Fig. 30 *a* u. *b*. Ei aus Drohnenzelle. Polplatten einer Furchungsspindel mit je 16 Chromosomen.

Tafel IX.

Alle Figuren der Taf. IX wurden mit Zeiss' Apochromat-Immersion 2 mm und Kompensationsocular 12 gezeichnet.

Fig. 31. Ei aus Drohnenzelle. Furchungsspindel, Telophase.

Fig. 32. Ei aus Drohnenzelle. Furchungskerne kurz nach der Teilung.

Fig. 33—39. Teilung eines Furchungskernes im befruchteten Ei.

Fig. 33. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Furchungskern kurz vor der Teilung mit großen Centrosomen und Centriolen.

Fig. 34. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Furchungsspindel, Äquatorialplatte mit etwa 32 Chromosomen.

Fig. 35. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Furchungsspindel, Bildung der Polplatten.

Fig. 36 *a* u. *b*. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Polplatten einer Furchungsspindel mit je 32 Chromosomen.

Fig. 37. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Furchungsspindel, Telophase.

Fig. 38. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Furchungskerne kurz nach der Teilung.

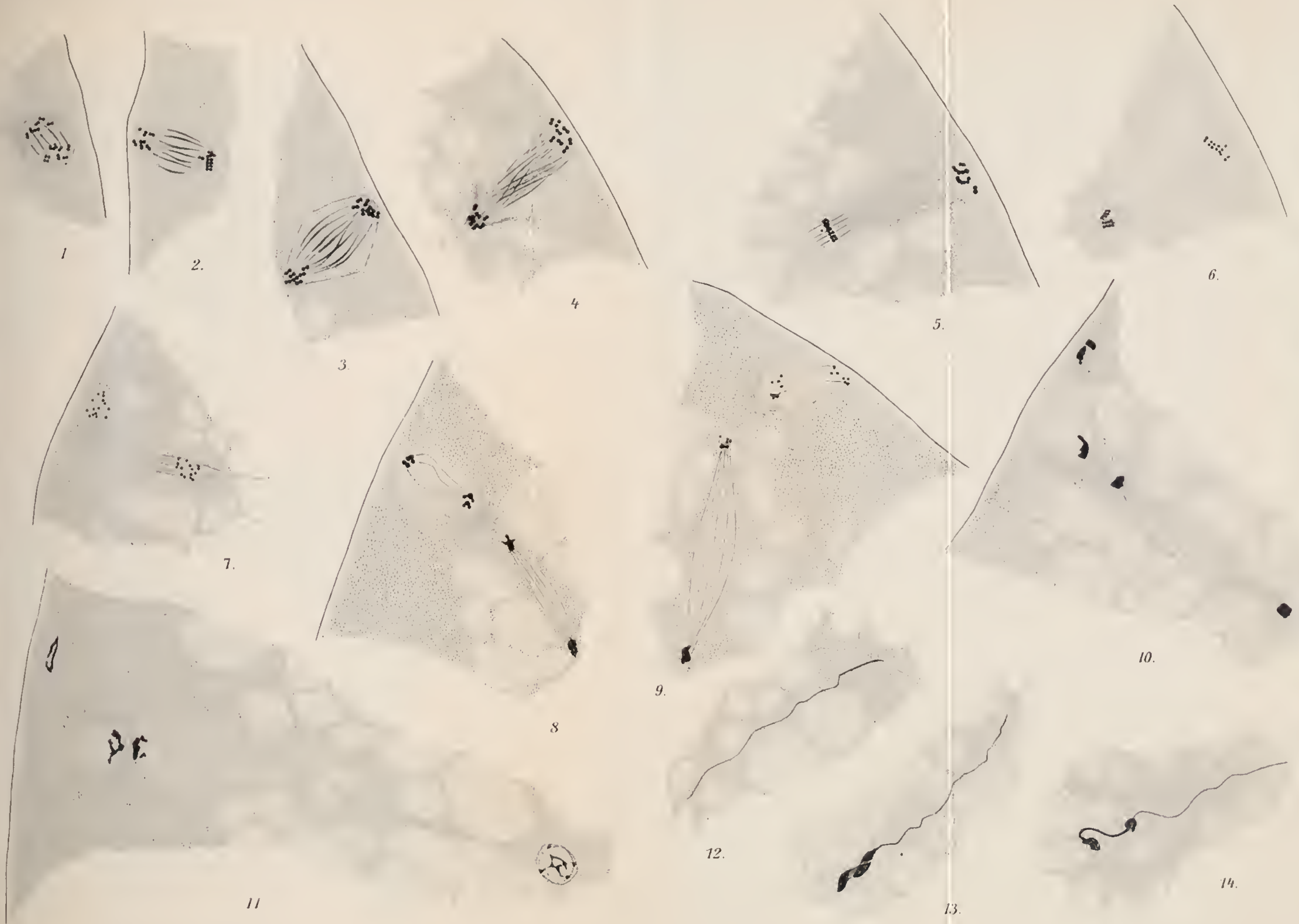
Fig. 39. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Furchungskerne kurz nach der Teilung, die Kerne aber bereits größer als die der vorigen Figur.

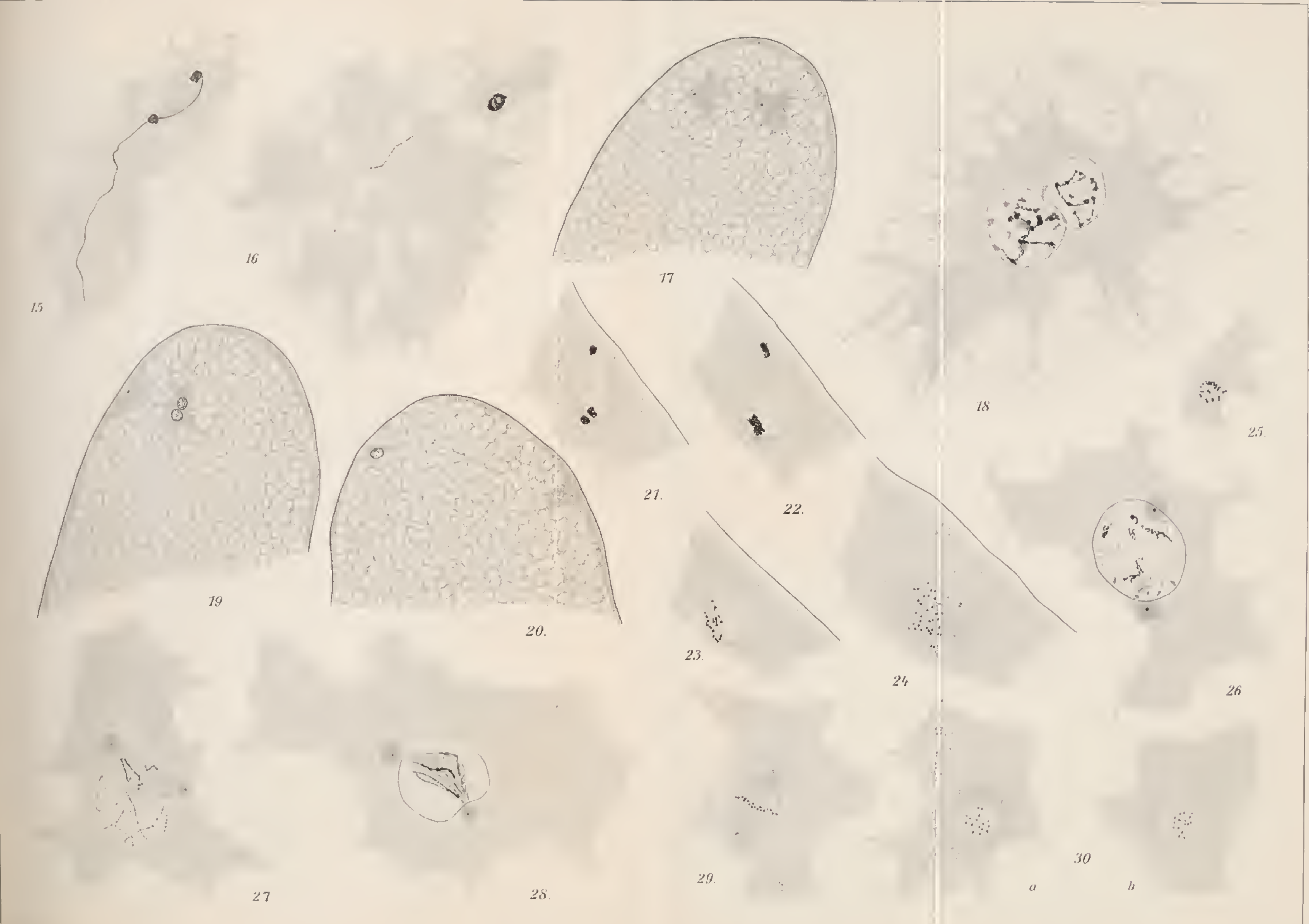
Fig. 40—43. Teilung eines auf der Wanderung an die Peripherie begriffenen Furchungskernes im unbefruchteten Ei.

Fig. 44. Ei aus Drohnenzelle. Dotterkern.

Fig. 45. Ei aus Arbeiterinnenzelle. Spindel des »Richtungskopulationskernes«, Anaphase. Die Chromosomen sind ungleich auf die beiden Polplatten verteilt und teilweise verklumpt. — Aus zwei Schnitten kombiniert.

Fig. 46. Ei aus Drohnenzelle. Die erste Spindel des »Richtungscopulationskernes« ist zerrissen und es liegen jetzt zwei Tochterspindeln im Richtungsplasma. — Aus drei Schnitten kombiniert.


1
2.
3.
4
5.
6.
7.
8
9.
10.
11
12.
13.
14.



Nachtsheim gez. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin Lith Anst v. Johannes Arndt, Jena

31. 32. 33 34. 35. 36 a. 36 b.

37. 38. 39. 40. 41.

42 43. 44. 45 46. 47 48.

Nachtsheim gez.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin.

Lith Anst. v. Johannes Arndt Jena.

49. 50. 51. 52 a. 52 b 53. 54.

55 56. 57. 58. 59 60

61.

62. 63. 64 65.

Nachtsheim gez. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Fig. 47. Ei aus Drohnenzelle. Tochterspindeln des »Richtungskopulationskernes«, Anaphase. — Aus zwei Schnitten kombiniert.

Fig. 48. Ei aus Drohnenzelle. Blastoderm, darunter das Richtungsplasma mit den letzten Resten der Richtungskörperderivate.

Tafel X.

Die Fig. 49—60 und 63 wurden mit Zeiss' Apochromat-Immersion 2 mm und Kompensationsocular 12, die Fig. 61, 62, 64 und 65 mit derselben Immersion und Kompensationsocular 6 gezeichnet.

Fig. 49—54. Teilung einer Blastodermzelle im unbefruchteten Ei.

Fig. 55. Blastodermspindel (Metaphase) aus einem befruchteten Ei.

Fig. 56—60. Die Spermatocytenteilungen im Hoden einer noch vollkommen weißen Drohnenlarve. — Nach Ausstrichpräparaten.

Fig. 56. Spermatocyte erster Ordnung kurz vor der ersten Reifungsteilung. Im Kern sind die Chromosomen in Form von 16 Dyaden sichtbar.

Fig. 57. Die erste Spermatocytenteilung. Es wird eine einfache Cytoplasmaknospe abgeschnürt, die Kernmembran wird nicht aufgelöst.

Fig. 58. Die zweite Spermatocytenteilung. Bildung der Tochterchromosomen.

Fig. 59 u. 60. Zweite Spermatocytenteilung, späte Anaphase.

Fig. 61—65. Ovogonienteilungen und Differenzierung der Keimzellen im Ovar einer Königin. — Längsschnitte durch eine Eiröhre.

Fig. 61. Undifferenzierte Keimzellen.

Fig. 62. Zellkoppeln.

Fig. 63. Ovogonienteilung. In der Spindel etwa 16 Chromosomen.

Fig. 64. Differenzierung der Keimzellen.

Fig. 65. Bildung der Nährkammern.

Chromosomenverhältnisse bei der Spermatogenese solitärer Apiden (Osmia cornuta Latr.).

Beiträge zur Geschlechtsbestimmungsfrage und zum Reduktionsproblem.

Von

Ludwig Armbruster.

(Aus dem Zoologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.)

Mit 10 Textfiguren und Tafel XI—XIII.

Inhalt.

I. Einleitung.

Stand der Frage.

Im Jahre 1903 veröffentlichte Friedrich Meves in zwei kurzen Mitteilungen die Entdeckung, daß die Bildung von »Richtungskörpern« auch bei männlichen Keimzellen vorkommt, nämlich bei der Honigbiene und Hummel. Die erste ungleiche Reifeteilung liefert nämlich nach ihm eine kleine Cytoplasmaknospe ohne Kern, und bei der zweiten entstehen ebenfalls ungleich große Teilstücke, diesmal jedoch mit gleich verteiltem Chromatinbestand.

In der endgültigen Veröffentlichung 1907 verbreitete er sich hauptsächlich über die Chromosomenfrage. Während ihm anfangs die Unterdrückung der ersten Reifeteilung »befremdlich« war, fand er sie jetzt begreiflich:

Die Bienenmännchen, Drohnen, entstehen aus unbefruchteten Eiern, die zwei Richtungskörper ausgestoßen haben, also besitzen ihre Zellen wie ebendiese Eier die reduzierte Chromosomenzahl 16. Bei der Reifung ihrer Keimzellen darf nicht eine nochmalige Reduktion eintreten: »Aus Gründen innerer Notwendigkeit« wird eine Teilung des Kernes bei der ersten Knospung unterdrückt. Bei der zweiten Knospung findet er denn auch eine Äquationsteilung. Die Chromosomenzahl 16 geht also nach ihm unvermindert bis in die Spermatozoen über.

Eine ganze Reihe von Parallel- und Nachuntersuchungen folgte. Manche Einzelheiten gaben zu kurzen Auseinandersetzungen Anlaß, aber im großen und ganzen fanden Meves' Angaben, daß die erste Reifungsteilung unterdrückt und in der zweiten der Chromosomenbestand nicht vermindert wird, ihre Bestätigung durch Doncaster 1906 und 1907 (*Apis mellifica*, und zwar nach anfänglichen Meinungsverschiedenheiten), Mark und Copeland 1906 (*Apis mellifica*), Mark und Copeland 1907 (*Vespa maculata*), Meves und Duesberg 1908 (*Vespa crabro*, auch *Vespa germanica*, *Camponotus herculeanus*), v. Lams 1908 (*Camponotus herculeanus*). Die Mevesschen Ergebnisse und Deutungen schienen sicher und fanden vielseitige Beachtung. Vor allem konnte man auch umgekehrt wie Meves schließen:

Die Reduktionsteilung bei der (ersten) Reifeteilung wird unterdrückt. Die Chromosomenzahl der Drohnen ist daher schon reduziert. Also hat sich das männliche Geschlecht bei den Bienen offenbar aus (normal gereiften) Eiern entwickelt, deren Chromosomenzahl nicht durch das hinzutretende Sperma zur Normalzahl ergänzt wurde: Die Dzierzon-

sche Theorie von der arrhenotoken Parthenogenese bei Bienen ist cytologisch auch indirekt bewiesen, oder doch höchst wahrscheinlich gemacht.

Welche Verbreitung hat diese außergewöhnliche Art der Samenreifung? Kann man dadurch, daß man sie untersucht, Aufschlüsse über die Geschlechtsbestimmung erhalten bei Tiergruppen, bei denen man sich streitet, auf welche Weise Männchen und Weibchen entstehen? Es lag nahe, bei noch weiteren Hymenopteren ähnliche Untersuchungen anzustellen. Zudem versprachen sie weitere Aufklärung für das Reduktionsproblem und manche cytologische Besonderheiten. Sie sollten ausgedehnt werden auf die solitären Apiden. Gerade bei ihnen lagen auch über die Frage der geschlechtsbestimmenden Ursachen gar manche recht bemerkenswerte, aber sich widersprechende und Widerspruch herausfordernde Beobachtungen vor, die einer Nachprüfung harrten.

Die Hauptresultate dieser Untersuchung waren gewonnen, als es sich herausstellte, daß schon 1909 Leopold Granata die Spermatocytenteilungen bei einer solitären Biene, der Holzbiene *Xylocopa violacea* L., untersucht hatte, und die hier beigegebenen entscheidenden Figuren waren schon fertiggestellt, als die schwer zugängliche Arbeit Granatas mir zu Gesicht kam. Sie ist lediglich cytologisch. Wie zu zeigen sein wird, bringt sie auch in dieser Hinsicht, namentlich soweit es sich um Chromosomenverhältnisse handelt, schon äußerer Umstände halber kein endgültiges Resultat. Soweit die Lücken durch Schlüsse ersetzt sind, dürften sie den Tatsachen schwerlich entsprechen. Aber abgesehen von allem wäre eine Fortsetzung der cytologischen Untersuchungen über die Chromosomenverhältnisse bei solitären Apiden, zumal auch bei andern Arten dieser vielgestaltigen Gruppe wohl nicht unnütz gewesen.

Zuvörderst sei eine Schuld der Dankbarkeit geziemend abgetragen gegenüber meinen verehrten Lehrern Herrn Geheimrat Weismann, Herrn Professor Doflein und Herrn Professor Schleip für das ungeteilte Interesse, mit dem sie das Werden vorliegender Arbeit begleiteten. Herrn Professor Schleip namentlich bin ich verpflichtet, denn er gab mir nicht nur die Anregung und die direkte Anleitung zur Untersuchung, er half mir auch gar manche Schwierigkeiten glücklich überwinden. Nicht unterlassen möchte ich, auch Herrn Privatdozent Dr. Alfred Kühn für manchen wertvollen Wink und die Mühe bei der Kontrolle der Befunde zu danken.

Die Untersuchungsobjekte und ihre Behandlung.

Die Beschaffung des Materials machte erhebliche Schwierigkeiten. Es sollte männliche Brut von solitären Bienen auf bestimmten Entwick-

lungsstufen in genügender Zahl zur Verfügung stehen. Angaben von Verhoeff (1892a) zufolge war der Winter die richtige Zeit, nach ihnen zu suchen.

Obwohl im Freiburger Zoologischen Institut verschiedentlich über solitäre Apiden gearbeitet worden, lagen Angaben über ihr Vorkommen in Freiburgs Umgebung nicht vor, da von auswärts bezogenes, in Alkohol gehärtetes Material benutzt worden war. Die Sammlungen der Museen, teils sehr wertvoll, versagten, weil keine oder nur weiter entlegene Fundorte angegeben waren. Nach Friese (1893 und 1895) kam als Fundort höchstens der nahe Kaiserstuhl in Betracht. Herr Dr. Friese-Schwerin, der verdienstvolle Apidologe, hatte die große Freundlichkeit, mich auf geeignete Arten aufmerksam zu machen[1]). Herr Professor Schleip konnte mir auch manche recht wertvolle Winke geben. Nester fanden sich zahlreich, aber fast alle waren verlassen, oder von Parasiten und den verschiedensten Wintergästen bezogen.

Die gesuchten *Anthophora*-Nistplätze fanden sich nicht; die vereinzelt ausgegrabenen Osmienarten gehörten zu den Frühjahrsosmien, die mit vollständig ausgebildeten Spermien überwintern. Daher blieb nichts andres übrig, als die nächste Generation abzuwarten, und inzwischen eigne Beobachtungen über geeignete Arten und ihre Nistplätze zu machen. Frieses biologische Abhandlung über die Untersuchungstiere (1891) wiesen mich auf die Umgebung Straßburgs. In einer Scheunenwand, aus ungebrannten Lehmsteinen errichtet, entdeckte ich am 19. 2. 1912, merkwürdigerweise gerade an der belebtesten Straße im Dorfe Achenheim, eine außerordentlich reiche Apidenkolonie, die, wie die nähere Untersuchung ergab, ursprünglich von *Anthophora fulvitaris* Brullé angelegt, später aber von *Osmia cornuta* Latr. bezogen war. Da die Tierchen noch nicht ausgeschlüpft waren, wurde ein Teil der Mauer abgebrochen, nach Freiburg transportiert und im Garten des Zoologischen Instituts aufgestellt. Die Erwartungen erfüllten sich: die Tierchen nisteten wieder

[1]) Gerne sei ihm auch hier nochmals mein verbindlichster Dank ausgesprochen. Dank schulde ich ferner: in erster Linie dem gefeierten Insektenforscher Jean Henri Fabre in Sérignan und seinem Herrn Sohn Paul Henri Fabre für das, was sie mir anläßlich des so lehr- und genußreichen Aufenthaltes in ihrem »Laboratorium auf freiem Felde« boten; sodann Herrn Inspektor Dr. E. Graeffe-Triest und Fräulein A. Dimpker, damals in Triest, für persönliche Bemühungen und Sammelarbeit; Herrn Dr. Bergner und Herrn Entomologen Speyer-Straßburg für ihr Entgegenkommen im dortigen Zoologischen Museum und faunistische Angaben für das Straßburger Gebiet; endlich den Herren DDr. Adam und Foerster für Winke über ein bemerkenswertes *Andrena*-Vorkommen am Kaiserstuhl, sowie meinem Freunde Herrn L. Bopp, für Angaben und Besorgung von Material aus der Würzburger Gegend.

am Ort, wo sie ausgeschlüpft waren. Inzwischen ließ sich dieselbe *Osmia cornuta* Latr. auch am Kaiserstuhl, besonders dem westlichen, in verhältnismäßig großer Individuenzahl fliegend, und in den dort charakteristischen Lößwänden bauend, beobachten und zwar zu einer Zeit, wo die übrigen Lößbewohner, namentlich auch die Schmarotzerbienen, noch nicht zur Stelle waren.

Es gelang auch, den Inhalt versorgter Nester, Eier mit dem ganzen

Textfig. A.



Teil einer Lehmmauer mit Osmien-Nestern (S. 245).

Futterball, auf dem sie klebten, zu transportieren und die ganze Entwicklung im Laboratorium zu verfolgen.

Unter diesen Verhältnissen war es möglich, auch die Biologie der Mauerbiene zu beobachten, eines Untersuchungsobjektes, das sich einer offensichtlichen Sympathie aller erfreute, die Gelegenheit hatten, die Naturgeschichte dieser »geschicktesten«, »kunstfertigsten«, jedenfalls aber anpassungsfähigsten Biene näher zu verfolgen. Hierüber, wie auch über einige biologische Experimente zu berichten, wird anderswo Gelegenheit sein.

An der gesuchten Brut war bald kein Mangel mehr. Von Zeit zu Zeit wurde Material fixiert und zwar i. a. solches, das sich stets unter normalen Verhältnissen befunden hat, und auf den Entwicklungszustand

der Keimdrüsen untersucht. Nebenbei wurden genau nach den Vorschriften von MEVES[1]) die Hoden von *Apis mellifica* fixiert.

Die entsprechenden Stadien von *Osmia cornuta* sind ebenfalls daran zu erkennen, daß ihre Augen sich zu bräunen beginnen. Die Entwicklung von *Osmia cornuta* und der meisten solitären Apiden überhaupt geht aber bedeutend langsamer vor sich:

Da am elsäßischen Versuchsnest genaues Protokoll geführt wurde über die Bauzeit der einzelnen Weibchen an ihren Nestern, so konnte leicht das Alter dieser Stadien auf etwa 120 Tage nach der Ablage als Ei, oder besser etwa 40 Tage nach dem Einspinnen bestimmt werden. (Dies läßt sich auch mit den nötigen Korrekturen aus Tabelle 14 erschließen.)

Bei den Larven läßt sich das Geschlecht morphologisch kaum erkennen, man muß es mehr erschließen aus der Größe und aus der Lage im Nest (die stets genau aufgezeichnet wurde). Bei der Nymphe kann man jedoch das männliche Geschlecht mit Leichtigkeit erkennen, hauptsächlich aus den langen Antennen mit 13 (statt 12) Gliedern und aus dem Fehlen der Cornua auf dem Clypeus. Ist auch, wie zu zeigen sein wird, die Möglichkeit, Spermatocytenteilungen zu finden, bei den solitären Bienen viel größer wegen ihrer bedeutend langsameren Entwicklung, so ist doch die Präparation des Hodens recht erschwert. Dem *Apis*-Hoden gegenüber verschwindend klein, liegt er im stark entwickelten Fettkörper und läßt sich auch bei ziemlicher Übung fast nie ganz isolieren. Freilich war dies bei der Kleinheit des Abdomens nicht so notwendig, wie die Vergleiche mit den ganz nach dem MEVESschen Vorbild fixierten Hoden zeigten. Auch in allen andern technischen Fragen war MEVES mir ein zuverlässiger Führer. Das HERMANNsche Gemisch, wie er es verwendete, gab Bilder offenbar ohne jede Schrumpfung, fast von der Klarheit eines Schemas. Es kamen ferner zur Verwendung FLEMMINGsche Gemische, beinahe ausschließlich nach den bei MEVES angegebenen Zusammensetzungen, und Sublimat-Eisessig (nach GILSON-PETRUNKEWITSCH). Bei besonders geglückten Präparaten stand letztere Fixierung der FLEMMINGschen (allein ausgenommen manche fertig aufgestellten Spindelfiguren, Äquatorialplatten) nicht nach. Eine immerhin deutlich erkennbare Schrumpfung hat sie mit der FLEMMINGschen gemein. Sie war überdies eine recht wünschenswerte Kontroll- und Vergleichsfixation für manche

[1]) Nach MEVES finden sich die geeigneten Stadien der Spermatogenese, die Spermatocytenteilungen bei *Apis mellifica* in Drohnenpuppen, die 11 Tage alt sind. Ich kam am selben Objekt zu einem andern Ergebnis, indem ich die Entwicklung von dem genau bestimmten Zeitpunkt der Eiablage an verfolgte; darnach sind diese Stadien 15—17 Tage alt.

weniger klarliegende cytologische Einzelheiten. Warm angewandt dürfte Sublimat das am schnellsten wirkende Fixierungsmittel sein, und gerade dieser Eigenschaft möchte ich besondere Bedeutung zumessen für das Studium gewisser rasch sich vollziehender Veränderungen an den Chromosomen. Der Wirkung der verschiedenen Fixierungsflüssigkeiten im einzelnen wurde eingehende Beachtung geschenkt. Alle Stadien wurden bei allen Fixierungen studiert und zumeist auch gezeichnet. Bei der Deutung dieser Bilder wird dann der Ort sein, sich näher Rechenschaft von der Wirkung der einzelnen Fixationen zu geben.

Die in Paraffin eingebetteten 5—10 μ dicken Schnitte wurden mit Eiweißglycerin kombiniert mit Wasser aufgeklebt. Es empfahl sich, nicht besonders dünn zu schneiden, um nicht zu viel angeschnittene Kerne zu erhalten.

An Färbungen wurden die verschiedensten und diese in den verschiedensten Kombinationen angewendet; als Kernfärbungen insbesondere Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, Hämatoxylin nach Delafield und Hämatein. Ersteres gab auch die achromatische Figur am deutlichsten wieder; aber es war für das Chromatinstudium eine ganze Skala von Differenzierungsstufen nötig; auch über andre Zellelemente gab die Eisenmethode Aufschluß; Hämatein erwies sich bei vorliegendem Objekt und seiner Chromosomgröße als das beste Hilfsmittel zur Zählung der Chromosomen. Nach 24stündiger Färbung und Differenzierung mit salzsaurem Alkohol erzielte man unschwer Bilder, bei denen die Chromosomen besonders bei der so häufigen gegenseitigen Verdeckung leichter zu zählen waren, als bei dem die Äquatorialplatten so stark schwärzenden Eisenhämatoxylin.

Die verschiedenen Plasmafärbungen Lichtgrün, Bordeauxrot, Eosin und Pikrokarmin empfahlen sich, um verschiedene Einzelheiten des Plasmas besser hervortreten und leichter erkennen zu lassen, ob ein Kern angeschnitten ist oder nicht.

Eine kräftige künstliche Beleuchtung erwies sich als notwendig für das Chromosomenzählen. Ein gewisses stereoskopisches Sehen im Mikroskop, von Vorteil zum Studium gewisser Lageverhältnisse, ließ sich bei den starken Kompensationsocularen dadurch ermöglichen, daß man dem Planspiegel bei feststehender Achse kleine Ausschläge nach beiden Seiten gab.

Die beigegebenen Bilder stellen nie optische Durchschnitte dar. Wie vielfach üblich wurden die bei hoher Einstellung deutlich hervortretenden Gegenstände in dunklerem Ton abgebildet. (In vereinzelten Fällen mußte umgekehrt verfahren werden.) Wo das eine oder andre

Mal angeschnittene Kerne abgebildet wurden, findet sich stets eine entsprechende Bemerkung. Bei den früheren Arbeiten wurden ähnliche Angaben vermißt.

Es wurde weniger Wert darauf gelegt, immer nur die allersprechendsten Mikroskopbilder wiederzugeben, sondern solche, die sich öfters finden lassen, also mehr die Durchschnittsbilder. Schon aus diesem Grunde wurden manchmal ganze Zellgruppen abgebildet. Ferner wurde jegliches Schematisieren bei der Wiedergabe ängstlich vermieden. Dies sollte auch dem Beurteiler es ermöglichen, sich über die Seriierung der Stadien ein eignes Urteil zu bilden, sowie auch darüber, wie die einzelnen Stadien ineinander übergehen.

II. Die Fortpflanzungsbiologie der solitären Apiden.

1. Bisherige Beobachtungen und Schlüsse.

Die cytologischen Untersuchungen der Samen- und Eireife bei Hymenopteren (wie die vorliegenden) erwiesen sich als besonders fruchtbar, nachdem sie, hauptsächlich durch v. Buttel-Reepen, Doncaster und Schleip, in Beziehung zur Geschlechtsbestimmungsfrage gesetzt worden waren.

Besonders günstig für die theoretische Deutung war es, daß man bei der Honigbiene auf einer durch Paulcke (1899) und Petrunkewitsch (1901) aufs neue gefestigten Theorie der Geschlechtsbestimmung fußen konnte. Eben deshalb soll auch hier, und zwar in diesem Falle durch Befragen der Biologie, zuerst untersucht werden, ob die Männchen auch bei solitären Bienen aus unbefruchteten Eiern hervorgehen, um damit eine möglichst sichere Grundlage für die theoretische Verwendung der cytologischen Ergebnisse zu erstreben.

Die Beobachtungsgabe und der Beobachtungsfleiß der früheren Autoren erleichtern hier die Arbeit. Es wird unsere erste Aufgabe sein, durch Vergleichung des bis jetzt Bekannten, das Sichere wie das Unsichere an dem Problem zu zeigen, das Ganze durch eigne Beobachtungen nachzuprüfen, um dann zu versuchen, die Frage samt vereinzelten Nebenfragen einer Beantwortung entgegen zu führen.

Die Tatsache, daß die Geschlechter im Bienenstock ganz regelmäßig verteilt sind, die Königinnen (eigentliche Weibchen) stets in den größten, die Männchen in kleineren und die Arbeiterinnen in den kleinsten Zellen entstehen, war schon lange bekannt.

Eine befriedigende Erklärung hat diese Tatsache durch Dzierzons Theorie gefunden: »Drohnen entstehen im Gegensatze zu den übrigen

Gliedern des Bienenstaates aus unbefruchtet gebliebenen Eiern und die Königin hat es in ihrer Gewalt, gerade solche Eier zu legen, wenn sie z. B. an eine Drohnenzelle kommt.«

Geraume Zeit vorher war eine ähnliche merkwürdige Verteilung der Geschlechter bei der »Maurerbiene« (= Mörtelbiene), *Chalicodoma muraria* F., dem geschickten Beobachter Jakob Christian Schaeffer (1764) aufgefallen. Da diese auffallendste aller Einsiedlerbienen, wie er sagt »der unsterbliche Reaumur zuerst und bis itzo noch ganz allein beschrieben hat«, braucht man wohl in unsrer Sache keine älteren Gewährsmänner zu suchen.

Schaeffer war es aufgefallen, wie die Mörtelbiene verschieden große Zellen baut, sie mit verschiedener Futtermenge versorgt und aus den großen Zellen Weibchen und aus den kleineren Männchen zieht. Nach ihm hat das Weibchen »Kenntnis« von dem verschiedenen Geschlecht seiner Nachkommen und von der jedem Geschlecht zukommenden Größe. Es sieht vorher, welches Ei ein Männchen und welches ein Weibchen wird, und verteilt die Eier dementsprechend auf die Zellen. »Ja, welches alles andre übertrifft! Die Mutterbiene weiß sogar die Ordnung, in welcher die männlichen und weiblichen Eyer in ihr und von ihr aufeinander folgen. Wie könnte sie sonsten diesmalen eine größere Zelle bauen, und ein weibliches Ey darein legen, und hierauf erst wieder eine andre Zelle bauen, in welche sie, wenn sie größer ist, abermalen ein weibliches Ey leget, wenn sie aber kleiner ist, ein männliches Ey leget.« — Schaeffer setzt demnach progame Geschlechtsbestimmung voraus.

Jean Henri Fabre hat das Verdienst, in der 3. Serie seiner lange Zeit wenig beachteten Souvenirs entomologiques (10 Bde., begonnen 1879, 2. Aufl. des 3. Bdes. 1890) die Frage der Geschlechtsbestimmung bei den solitären Apiden — offenbar selbständig — sich zu eingehender Untersuchung vorgelegt und dank seiner vorbildlichen Methode soweit gefördert zu haben, daß man sich wundern muß, wie lediglich einige Vorurteile ihm eine naheliegende Lösung unannehmbar machten und ihn überhaupt zum Verzicht auf jegliche Erklärung bewogen. Jedenfalls hat er durch seine Ergebnisse im Grunde schon manche erst später von andern gestellte Frage beantwortet und manchem der erst später auftauchenden Einwände den Boden entzogen. Daß seine Beobachtungen, die sich durch 6—7 Jahre hinzogen, zuverlässig sind, werden der Vergleich mit späteren Autoren, sowie eigne Nachuntersuchungen zeigen. Seine Resultate sind nicht statistisch niedergelegt; er gibt meist nur einige typische Beispiele genauer an. Diese wurden in den beigefügten Tabellen neben den Ergebnissen andrer Beobachter registriert. Um viele

Worte zu sparen, kann manchmal auf sie hingewiesen werden. Die FABREschen Resultate seien, obschon von CUÉNOT (1899) und SCHLEIP (1912) in den Grundzügen weiter bekannt gemacht und im Sinne der DZIERZONschen Theorie verwendet, hier nochmals kurz wiedergegeben.

1. Verschiedene Arten der Osmien (auch *Osmia cornuta*), ebenso wie *Chalicodoma*-Arten legen in ihren Nestern, deren Anlage das Alter der Zellen erkennen läßt, zuerst die Weibchen, dann die Männchen. Zugleich sind die weiblichen Zellen größer und besser mit Futter versorgt, die männlichen kleiner und enthalten kärglicheres Futter. Die Männchen, im Nest der Außenwelt zunächst, verlassen auch zuerst ihre Zellen. Als Ausnahme kennt er *Osmia tridentata*. Hier wechseln die Zellen der verschiedenen Geschlechter in der Nestanlage ziemlich regellos ab. Die Größe der Geschlechter ist hier aber auch ziemlich gleich, während bei den oben genannten das Größenverhältnis 2 : 3 beträgt. Die Regel:

Textfig. B.



Osmia cornuta-Nest in Schilfrohr, 3/4 nat. Gr., rekonstruiert nach FABRE.
Der Vorhof rechts ist verkürzt wiedergegeben.

beim Gelege zuerst die Weibchen, dann die Männchen, scheint weite Verbreitung bei den Hymenopteren zu haben.

2. Es liegt in der Macht der *Osmia*, von der Regel, erst die Weibchen, dann die Männchen, abzugehen: gibt man den Osmien kurze Niströhren, oder andre Nistgelegenheiten, die nicht das ganze Gelege einer *Osmia* (nach ihm etwa 15 Eier) aufzunehmen vermögen, so legt sie nicht zuerst alle weiblichen Eier (es sei im folgenden stets diese Ausdrucksweise gestattet), sondern immer bei jedem neuen Nest zuerst Weibchen, dann Männchen. Bezieht eine *Osmia* die birnförmigen, geräumigen *Anthophora*-Zellen (vgl. Fig. g u. h Taf. XI), dann pflegt sie bei jeder Zelle unten im weiten Teil ein Weibchen, im oberen engeren Teil, durch eine Zwischenwand getrennt, ein Männchen einzuquartieren. Einen ähnlichen besonders überraschenden Fall zeigt Fig. B, das Schema eines Nestes, angelegt in 11 mm weitem Schilfrohr und hier rekonstruiert nach den genauen Angaben FABRES. Wenn Chalicodomen alte Nester wieder beziehen, finden sie selten alle Zellen leer und bezugsfähig. Das ganze Gelege muß auf mehrere Nester verteilt werden. Dann aber sind fast

die gleichen Bedingungen gegeben, wie bei der Bienenkönigin. Die Eier entsprechen hier der durch andre Individuen bestimmten Zellgröße.

3. Die Futtermenge ist nicht geschlechtsbestimmend: *Anthidium septemdentatum* Latr. und *bellicosum* Lep. bauen nach ihm in *Helix aspersa*-Schalen. Hinten liegen ebenfalls die Weibchen vorn die Männchen, hier sind aber die Männchen größer als die Weibchen; begreiflicherweise, denn hinten ist hier der kleinere Raum und die kleinere Futtermenge. Man kann in einem eben angelegten *Osmia tridentata*-Nest Futtervorrat der hintersten Zellen eines Nestes bis auf ein Drittel verringern, den der vordersten Zellen um das Doppelte bis Dreifache vermehren, man erhält dann nicht etwa hinten Männchen und vorn Weibchen, sondern die gleiche Geschlechtsverteilung wie gewöhnlich. Nur die Körpergröße der Individuen wird durch dieses Experiment beeinflußt. Weibliches Geschlecht wird also nicht durch reichlicheres Futter bestimmt.

4. Die eierlegenden Weibchen haben nicht für jeden Augenblick zwei Eier, ein männlich präformiertes und ein weiblich präformiertes zur Verfügung, so daß in jedem Falle des Bedarfs ein gerade passendes gelegt werden kann. Dem widerspricht, wie Fabre erkennt, die Anlage der Ausführgänge des Ovars. Also progame Geschlechtsbestimmung ist ausgeschlossen.

5. Jedes Weibchen kann, je nachdem ihm Nistgelegenheit geboten wird, ein Geschlecht im Gelege ganz unterdrücken; also besteht auch eine etwaige progam festgelegte Geschlechtsproportion nicht. Gab er nämlich ganz enge künstliche Nester, oder die ammonitenartig, gleichmäßig eng aufgerollten Schalen von *Helix caespitum* (= *Xerophila ericetorum*), so erhielt er, in günstigen Fällen so gut wie ausschließlich, Männchen (s. Tab. 11).

Der Schluß läßt sich nicht abweisen: »Tel qu'il provient de l'ovaire, l'œuf n'a pas encore de sexe déterminé. C'est au moment de la ponte ou un peu avant qu'est reçue l'empreinte finale d'où proviendra le sexe.«

Von der Dzierzonschen Theorie muß er gestehen, sie sei très simple, lucide, séduisante, er kann ihr aber keine Sympathien abgewinnen. Er will ihr im Gegenteil einen »Keulenschlag« versetzen durch folgendes Argument: Bei der Beobachtung der letzten versorgten Zellen fand er verschiedentlich ganz normal aussehende und normal versorgte Eier, die sich, wie es sich zeigte, nicht entwickelten. «Ces œufs n'éclosent pas parce qu'ils n'ont pas été fécondés. Ainsi périrait tout œuf animal ou végétal qui n'aurait pas reçu l'imprégnation vivifiante. Tout autre réponse est impossible.»

Aber gerade die letzten Bemerkungen über die vermeintliche theoretische Unmöglichkeit jeglicher Parthenogenese zeigen, daß kaum eine andre als diese »sehr einfache und einleuchtende« DZIERZONsche Theorie hier als richtige Beantwortung seiner so geistreich an die Natur gestellten Fragen in Betracht kommen kann.

H. NICOLAS (1892), offenbar allzu abhängig von FABRE, kennt bei »Osmien« (er gibt bei seinen Experimenten die Species nicht an) die Verhältnisse über Zellengröße, Futtermenge, Zellen- und Geschlechtsverteilung. Über ihre Beziehungen zueinander drückt er sich unklar aus und gibt eigentümliche Erklärungen:

. . . »La ponte se termine toujours par un ♂, tandis qu'elle débute par une ♀ invariablement, et cette autre considération de la plus haute importance que la distribution des œufs reste à la merci de la pondeuse pour leur sexuation, en un mot qu'elle pond à volonté un œuf devant donner un ♂ ou bien une ♀, suivant la nécessité du moment, à tel point que lorsque la pondeuse doit déposer un œuf ♂ (pouvons nous dire) elle prépare une loge et une quantité de nourriture différentes que pour un œuf ♀. La cellule devant contenir une ♀ est toujours plus spacieuse pour faciliter son développement, la ♀ étant toujours plus grosse que le ♂ dans bien des cas, tandis que, celle du ♂ est toujours plus réduite. Il faut donc admettre que tous ces préparatifs sont faits en raison du sexe et que, l'œuf étant déposé le dernier, forcément la pondeuse a conscience du sexe de l'œuf qu'elle va confier à ces provisions accumulées« (S. 117).

Er spricht von einer willkürlichen Bestimmungsfähigkeit des eierlegenden ♀ hinsichtlich des Geschlechts, zugleich von dem Zwang, im bestimmten Moment ein männliches Ei zu legen und hierfür — da es ja auch eine Kenntnis vom Geschlechte des Eies hat — eine passende Zelle sowie Futtermenge zu bereiten. Nach ihm bräuchte das ♀ eine größere Zelle, um sich leichter entwickeln zu können, da es »immer größer ist als vielfach die ♂«.

Wertvoller sind NICOLAS' Angaben über das Verhältnis von Futtermenge zum Geschlecht des Zellenbewohners. Die Futtermenge ist nicht geschlechtsbestimmend: er setzte, »bei mehreren Gelegen« das jüngste Ei der vordersten Zelle auf den großen Futterball der hintersten Zelle und umgekehrt. Trotz des verschiedenen Futters entwickelt sich das jüngste Ei wie gewöhnlich zum ♂, das älteste zum ♀. Die veränderte Futtermenge hatte wohl Einfluß auf die Körpergröße, nicht aber auf das Geschlecht. Auch er gibt ausdrücklich zu, daß es in der Macht der Osmien steht, von der gewöhnlichen Geschlechtsverteilung, zuerst Weib-

chen dann Männchen, abzugehen. Veranlaßt hierzu werden sie in erster Linie durch gegebene außergewöhnliche Raumverhältnisse bei der Nestanlage, ganz wie FABRE es angibt.

Er empfiehlt bei den birnförmigen *Anthophora*-Zellen den engeren Ausgang der Zelle zu verstopfen und die Zelle, beim bauchigen Teil geöffnet, den Osmien als Nistgelegenheit anzubieten. Zuerst werde dann das *Osmia*-Weibchen ein Männchen legen, entsprechend dem jetzt engen Hintergrund der Nistgelegenheit, und zuletzt ein Weibchen.

Bei der Deutung der Befunde lehnt er die DZIERZONsche Theorie ausdrücklich ab. Er glaubt freilich, sie beziehe sich auf die »disposition des ovaires et la sortie des œufs de cet organe« (S. 118). Vom entscheidenden Punkte des Befruchtetseins oder Nichtbefruchtetseins erwähnt er nichts. (Ob hier nicht eine Verwechslung mit einem von FABRE fingierten und widerlegten Erklärungsversuch vorliegt? s. o. S. 252 Nr. 4 FABRE III², 1890, S. 409 ff.)

Seine Lösung, an der er selbst auch manches sonderbar findet, lautet mit Berufung auf FABRE: «Par un mécanisme spécial, il est évident que la mère donne au moment voulu le sexe à l'œuf qu'elle va pondre, mais rien n'est ordonné par avance, puisque, suivant la nécessité, nous avons fait pondre à volonté une suite d'œufs ♂ ou ♀: il suffisait d'offrir des roseaux courts, ou bien d'un diamètre différent aux mères qui pondent à leur gré un œuf ♂ ou un œuf ♀, en disposant ainsi du sexe de leurs œufs» (S. 118). Also auch er nähert sich ganz gegen seinen Willen der DZIERZONschen Theorie.

C. VERHOEFF (1892b und c) glaubt, der Entdecker des Gesetzes der »Proterothesie«: »zuerst die Weibchen, dann die Männchen«, zu sein.

Er findet es bei den Fossorien, Anthophilen, Vesparien und Parasiten. Ihm ist aufgefallen, wie bei den bauenden Weibchen manche Anzeichen für ein Nachlassen der Brutversorgungsenergie (auch FABRE kennt ähnliches) sprechen, so z. B. ist der zuerst gebohrte Nestschacht eines *Crabro capitosus*-Weibchens bedeutend tiefer als die etwaigen späteren. Eine Folge davon ist das Kleinerwerden der Zellen und ihrer Nahrungsvorräte. Nach ihm ist »die Art des Geschlechtes wesentlich (wenn auch nicht ganz allein) von der Nahrungsmenge abhängig«.

So wäre freilich die »Proterothesie« verständlich. Nicht erklärt wäre sie nach ihm, wenn mit DZIERZON Befruchtung oder Nichtbefruchtung über das Geschlecht bestimmen würde, »denn bei so einer geringen Zahl von Nachkommen ist an einen Verbrauch von Spermatozoen nicht zu denken«.

An ein Drittes dachte er also nicht.

Friese (1901) bemerkt in ähnlicher Weise, daß bei *Osmia rubicola* Friese, wie Perez auch schon von andern Hymenopteren beobachtet habe, einzelne Nester nur ein Geschlecht enthielten.

Den Genannten schließt sich mit einer gelegentlichen und gleichlautenden Bemerkung Hans Hoeppner an, aus dessen sorgfältig verzeichneten Zuchtresultaten manches interessante Beispiel (auch von Nichtapiden) in die beifolgenden Tabellen aufgenommen wurde. Seine Aufzeichnungen bringt er im übrigen in keinerlei Zusammenhang mit unserm Problem.

Das reichste Material über die Geschlechtsverteilung bei Osmien hat in neuerer Zeit A. Popovici-Basnozanu (1909) zusammengetragen und auch statistisch verarbeitet. Die Schilfrohre, mit denen die Häuser seiner Landsleute in Rumänien gedeckt werden, boten ihm in großer Zahl »Linienbauten« von Osmien, also solche Nester, die für unsre Frage wie geschaffen sind. Er hat sich freilich nur darauf beschränkt, sein Material, bei seiner Mannigfaltigkeit lehrreich und offenbar zuverlässig, in Verbindung mit sorgfältigen Messungen und Zählungen zu veröffentlichen. Nach der Geschlechtsbestimmung fragt er nicht, nur meint er, die Fabresche Regel, zuerst die Weibchen in größeren Zellen mit vielem Futter, dann die Männchen in engen Zellen mit weniger Futter, dürfe keine absolute Gültigkeit beanspruchen, da er auch Ausnahmen davon anführen kann. Auch in einer späteren kurzen Abhandlung (1910), die darüber referiert, wie er aus eben angelegten Nestern Futter entfernt und nach der üblichen Zeit und bei sonst unveränderten Lebensbedingungen kleinere Individuen bekommen habe, nimmt er keinen Anlaß, über etwaigen bestimmenden Einfluß der Futtermenge sich zu verbreiten.

Über den Braconiden *Encyrtus fuscicollis* liegen, um auch einen Blick auf Nachbargebiete zu werfen, ältere Angaben vor (Bugnion 1891). Es entwickelten sich alle Nachkommen eines Weibchens aus ein und demselben Wirtstier zum gleichen Geschlecht, nur in seltenen Fällen krochen aus einer Raupe Männchen und Weibchen aus. Diese Verteilung der Geschlechter wurde mit den entsprechenden Verhältnissen bei *Apis mellifica* verglichen. — Dies darf aber nicht ohne weiteres geschehen, da bei *Encyrtus* durch Polyembryonie aus einem Ei bis zu 100 Nachkommen entstehen können, die dann alle stets das gleiche Geschlecht haben (Marchal 1904, Riley 1907 a und b). Wohl aber kommt es, nach diesem beachtenswerten Fall zu schließen, bei Hymenopteren sicher vor, daß das Geschlecht eines sich eben erst furchenden Eies, also schon außerordentlich früh, unabänderlich festgelegt ist.

Für *Encyrtus aphidivorus* weist Silvestri (1908) nach, daß aus unbefruchteten Eiern Männchen entstehen, bei *Litomastix truncatellus* gilt nach ihm (1906) die Dzierzonsche Theorie in vollem Umfang.

2. Eigne Beobachtungen.

Aus dem bisher Besprochenen ist zunächst eines sicher zu entnehmen: Fabre hat sich nicht getäuscht, wenn er bei den solitären Apiden feststellte, daß ihre Gelege in der Regel mit Weibchen beginnen und mit Männchen aufhören. Ein Blick auf die Zusammenstellungen der Tabellen lehrt uns dasselbe.

Die andre Beobachtung, daß das bauende Weibchen dann, wenn es das Gelege auf mehrere Nester verteilen muß, regelmäßig mit Weibchen und Männchen abwechselt und zwar gerade so, daß die Weibchen auch jetzt wieder in jedem einzelnen Nest hinten liegen und die Männchen jeweils vorn, scheint der Nachprüfung zu bedürfen, da ähnliches von andern nicht beschrieben wird. Ja es dürften dann die Bauten mit nur einem Geschlecht nur zu den Ausnahmen gehören, während solche mehrfach erwähnt werden und auch in den Tabellen verschiedentlich vorkommen.

Da die Osmien, wie sie in meinem Beobachtungsgebiet vorkommen (*Osmia cornuta* und *rufa*), i. a. nicht selbst sich die Nester graben, sondern so gut wie ausschließlich schon vorhandene Hohlräume benutzen (hauptsächlich die Nestlöcher andrer Lößbewohner, vereinzelt auch hohle Wurzeln und die ihnen eigens dargebotenen hohlen Holunderzweige), so konnten verhältnismäßig wenig ausgesprochene Linienbauten untersucht werden. Alle aber bestätigen die Fabresche Regel.

Als besonders bemerkenswert sei angeführt ein *Osmia rufa*-Nest Nr. 107, Tab. 4, Fig. a. Taf. XI.

Es verpuppten sich die Larven der

Zelle 1 am 11. 7. 12: Weibchen (Kokon etwa 13 mm);
Zelle 2 (als Larve eingegangen);
Zelle 4 am 15. 7. 12: Weibchen (Kokon etwa 12 mm);
Zelle 5 am 13. 7. 12: Männchen (Kokon etwa 12 mm).

Die Zelle 3 sollte der Regel nach ein Weibchen enthalten, der Kokon aber war nur 8,5 mm lang und man hätte ein Männchen erwarten sollen (da die durchschnittliche Kokonlänge der Weibchen 12 mm, die der Männchen 10 mm beträgt, wie auch Popovici [1910] bestätigt, vgl. auch Fig. n. Taf. XI): am 29. 7. 12 schlüpfte eine weibliche Nymphe aus. Nicht deswegen also entstehen hinten im Nest Weibchen, weil hinten

viel Futter zur Verfügung steht, denn hier enthielt eine Zelle hinten im Nest wenig Futter, die Larve hatte wenig Futter aufgenommen und trotzdem sich zum Weibchen entwickelt.

Sind die Osmien lediglich auf die Zellen und Nestlöcher andrer Apiden angewiesen, wie in freier Natur am Kaiserstuhl fast ausschließlich (auch am Versuchsnest), dann kann von ausgesprochenen Linienbauten keine Rede sein: Von alten Apidennestern sind in den seltensten Fällen alle Zellen wieder bezugsfähig, zumal im zeitigen Frühjahr. Manche Zellen, ja ganze Zellreihen sind gar nicht geöffnet worden, weil die Brut nicht zum Ausschlüpfen kam, oder noch nachträglich durch Parasiten vernichtet worden, die mit dem Bienenei sich in der Zelle entwickeln oder die sich durch schmale Ritzen oder enge Bohrlöcher Zugang verschaffen. In vielen befinden sich noch Wintergäste, hauptsächlich Spinnen, Coccinellen, Dipteren oder auch noch anderweitige Apiden, die sich eingemietet hatten, aber noch nicht ausgeschlüpft sind. Daher sind die Osmien hier gezwungen, ihr Gelege auf mehrere Nester zu verteilen. Wenn man daher an sonnenreichen Frühlingstagen eine geeignete Lößwand im Auge behält, so findet man neben emsig und sicher aus- und einfliegenden nahrungbeitragenden Osmienweibchen, auch solche, die ohne Pollenbeute unaufhörlich, nach Art der Schmarotzer, die Wände absuchen. Während die übrigen emsig weitersammeln, müssen diese die Sammeltätigkeit unterbrechen und nach geeigneten neuen Nistlöchern suchen. Es scheint also hier meistens ausgeschlossen, daß ein *Osmia*-Weibchen sein ganzes Gelege in ein und demselben Schacht unterbringt.

Tatsächlich fanden sich in den meisten Fällen zwei bis drei Osmienzellen beisammen im Löß gebaut, seltener fünf, z. B. Nest 74 *a—e* Tab. 14, einmal unter außergewöhnlichen Umständen sechs (Nest 71 *a—f*). Daß aber durchschnittlich ein Weibchen im ganzen nur drei Nachkommen hat, scheint ausgeschlossen, schon wenn man die Dauer der ganzen Brutversorgung mit der Dauer der Versorgung einer einzelnen Zelle vergleicht.

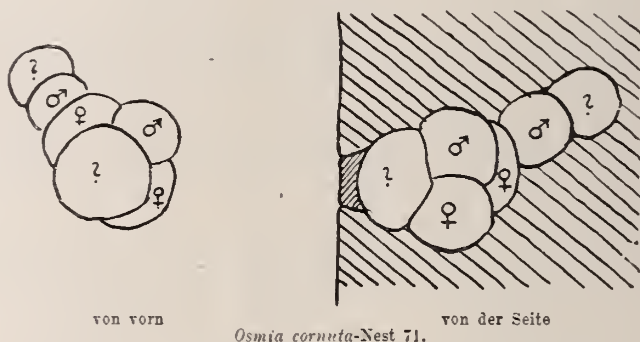
Die Tätigkeit der Weibchen am Versuchsnest begann bald nach dem 15. 3. 12, dem Termin der ersten Begattungen. Die ersten Nester waren in der ersten Woche des April, die letzten am 22. April geschlossen. Um eine Zelle zu bauen und zu versorgen, sind bei gutem Wetter nicht mehr als 6 Stunden erforderlich, wie aus verschiedensten Umständen folgt, auch eigne Beobachtungen bestätigen.

Die Zahl der am Versuchsnest erzielten Nester war größer als die Zahl der bauenden Weibchen, und doch enthielt eines, an dem hauptsächlich vom 8.—17. April gebaut worden war, zwölf Zellen, von denen elf lebende, besonders große Nymphen enthielten. Diese stattliche Zahl

von Zellen war in kurzer Zeit gebaut und versorgt. Die Insassen wiesen denn auch, wie die Zuchtergebnisse zeigten, minimale Altersunterschiede auf. Ein einziges Bienenweibchen hatte sie also kurz nacheinander gelegt.

Das alles deutet auf eine bemerkenswerte Brutversorgungsenergie der Osmienweibchen hin. Wenn auch bei *Osmia cornuta* die Fruchtbarkeit nicht so groß zu sein scheint, als wie z. B. die von *Osmia parvula* [welche bei uns bis 19 Eier legt nach Hoeppner (1904 II)], auch nicht wie vielleicht die der *Osmia cornuta* in südlicheren Gegenden (z. B. bei Fabre, der durchschnittlich 15 Eier annimmt), so darf man doch durchschnittlich acht Eier pro Weibchen normalerweise rechnen. Dann sind aber sicher die in überwiegender Zahl gefundenen 2- und 3-Zellennester nicht ganze,

Textfig. C.



von vorn — von der Seite

Osmia cornuta-Nest 71.

sondern nur Teilgelege der Osmien. Und wie steht es jetzt mit der Verteilung der Geschlechter?

Es war ganz auffallend, wie die obersten, dem Flugloch zunächst liegenden Zellen fast ausschließlich Männchen enthielten (ein für meine Sammelzwecke recht willkommener Umstand, — wie unangenehm wäre das Gegenteil aufgefallen!), fast nie fand sich ein Geschlecht allein. Zur Unterhaltung mancher Exkursionsbegleiter konnte so das Geschlecht des kommenden Fundes immer zum Voraus angegeben werden. Die Osmienweibchen haben also nicht zuerst die Reihe weiblicher Eier, dann die Reihe der männlichen gelegt, sondern in der genannten merkwürdigen Art, ganz wie Fabre es angibt, abgewechselt. Ein Teil meiner Beobachtungen und Aufzeichnungen ist in Tab. 14 neben den Zuchtresultaten mitgeteilt, genau nach den Notizen des Protokolls (obwohl bei Nest 70 *a*—*c* und 73 *a*—*c* offenbar eine Bezeichnungsverwechslung, begreiflich bei dem oftmaligen Umfüllen und eigentlich belanglos für den behandelten Punkt, vorliegt).

Einer Beobachtung, die wohl mit dem so lehrreichen, oben bei Fabre angeführten Falle (Fig. B) verglichen werden kann, sei noch eigens Erwähnung getan (s. Fig. C, Nr. 71 *a—f*).

In einem kugeligen Hohlraum mit rückwärts sich anschließendem engem Schacht hatte *Osmia cornuta* genistet. Sie hatte nicht etwa allein sich mit dem Schacht begnügt, sondern auch den kugeligen Raum, eine ungewohnte Nistgelegenheit, »geschickt« durch Zwischenwände in kleinere Kammern eingeteilt und auf diese Weise ausgenutzt. Leider ließ sich der Inhalt von zwei Zellen dem Geschlechte nach nicht näher bestimmen (zwei tote Larven). Eines ist sicher, hier hatte das Gelege nicht begonnen mit Weibchen, sondern gleich im Anfang wurde ein männliches Ei gelegt und wahrscheinlich die gewöhnliche Ordnung auch sonst noch einmal, den anormalen Raumverhältnissen entsprechend, abgeändert.

Aber auch bei günstigem Nistmaterial kommt es offenbar bei *Osmia cornuta* und *rufa* häufig vor, daß die Gelege auf mehrere Nester verteilt werden. Popovici (1909) findet unter 121 untersuchten Neströhren:

43	Röhren	mit	1	Zelle
25	»	»	2	Zellen
18	»	»	3	»
9	»	»	4	»
8	»	»	5	»
5	»	»	6	»
5	»	»	7	»
2	»	»	8	»
2	»	»	9	»
2	»	»	10	»
2	»	»	11	»

Es überrascht ihn die große Zahl der einzelligen Nester, zumal noch i. a. Raum für mehrere Zellen vorhanden war.

Wenn aber Popovicis Vermutung wahr wäre, daß es sich jeweils um das Ende der Gelege handle, dann würde die *Osmia cornuta* durchschnittlich nicht einmal zwei Eier legen! Zudem gibt er selbst an, daß *Osmia cornuta* an sich schon eine Vorliebe für die längsten Neströhren zeige, dann aber sind freie Räume unvermeidlich. Endlich gehört der freie Raum nach der letzten Zelle, der Vorhof, nach fremden und eignen zahlreichen Beobachtungen zum regelrechten Osmiennest und ist offenbar von nicht geringer Bedeutung, wie z. B. Friese (1899) hervorgehoben hat. Eine Deutung in obigem Sinn wurde von mehreren Seiten schon

versucht, ist aber in den meisten Fällen nicht zulässig. Vergleiche hierzu auch die Figuren a—f, speziell e und (f).

Sind aber die kurzen Zellserien nur Teilgelege, dann sind die Fabreschen Angaben, deren exakte Darstellung auch auf Zuverlässigkeit schließen läßt, wiederum bestätigt.

Fig. h zeigt auch, daß die bei Fabre unter Punkt 2 und bei Nicolas angegebenen Verhältnisse sich wiederfinden ließen. In einer bei Straßburg ausgegrabenen Zelle gebaut von *Anthophora fulvitarsis* Brullé findet sich hier unten ein weiblicher, oben ein männlicher Kokon, ein Beweis neben den andern für die Übereinstimmung des »Geschlechts« eines Eies mit den Raumverhältnissen, unter Umständen entgegen der gewöhnlich innegehaltenen Reihenfolge.

Was die anderweitigen Angaben über »monöcische« Bauten, d. i. solche mit nur einem Geschlechte angehen, so sind sie meist mehr gelegentlich gemacht, als Fälle, die bei Zuchten besonders auffallen mußten. Sodann muß beachtet werden, daß es sich hier offenbar nicht um strenge Gesetze, sondern um Regeln handelt und zwar wahrscheinlich um vorteilhafte Anpassungen, die nicht bei allen Hymenopteren mit Linienbauten gleich ausgeprägt vorliegen müssen und offenbar, wie die Tabellen zeigen, z. B. bei manchen Grabwespen (Sphegiden) weniger deutlich sind. Wenn sich *Osmia cornuta* und *Osmia rufa* hierin besonders auszeichneten, würde das nur übereinstimmen mit andern Beobachtungen.

Die für die Mörtelbiene (*Chalicodoma muraria* F.) angegebenen Verhältnisse wurden ebenfalls vorgefunden. Die Kontrolle stützt sich freilich nur auf wenige Nester, da *Chalicodoma* in hiesiger Gegend selten ist. In Fig. l finden sich zwei Nester (die Seite, mit der sie am Sandstein festklebten, ist dem Beschauer zugewandt) mit einigen Angaben über die vorgefundene Geschlechtsverteilung: die Männchen haben die äußeren i. a. kleineren, die Weibchen die mittleren, geräumigeren Zellen inne. Ein andres Nest war länglich, und vom *Chalicodoma*-Weibchen in die vom Steinhauer ausgehauenen Gliederungen einer Fensterbrüstung eingebaut. Die breite Hohlkehle enthielt die Weibchen, der engere rechtwinklig geknickte Falz die Männchen.

Daß *Chalicodoma*, wenn sie alte Nester wieder benutzt, die Geschlechter auch in der komplizierteren Weise verteilt, scheint mir zwar nicht zweifelhaft, konnte aber nicht nachgeprüft werden. (Kokon- und Nymphengröße s. Fig. k und i.)

Bei den Schmarotzern (Apiden und andern) kommt nicht nur die reguläre Geschlechtsverteilung vor (vergleiche oben Verhoeff und unten die Tabellen), sondern offenbar auch die kompliziertere (s. z. B. die Nester

Nr. 187, 188, 191; ähnlich 197, 198, 199), denn daß z. B. die *Stelis*-Arten fruchtbar sind, geht daraus hervor, daß nicht selten acht *Stelis nasuta*-Kokons in einer einzigen *Chalicodoma*-Zelle vorkommen. Diese Verhältnisse bei den Schmarotzern näher zu untersuchen, müßte für einen Beobachter, dem die Umstände hold sind, eine interessante Aufgabe sein.

Die ganze Frage von den Geschlechtsfolgen bei der Verteilung des Geleges auf mehrere Nester ist übrigens für die Tatsache der Gültigkeit der Dzierzonschen Theorie, deren Diskussion wir uns nun nähern, ohne Belang, sondern nur für ihre Beweisbarkeit auf biologischem Wege.

Zuerst aber sei noch über einen, dreimal wiederholten, aber freilich immer mißglückten, Versuch berichtet, die Gültigkeit der Dzierzonschen Theorie auf direktem Wege festzustellen: unbefruchtete Weibchen zum Nestbau zu veranlassen und die eventuell erzielte Brut auf ihr Geschlecht zu untersuchen.

Zur rechten Zeit aus dem Kokon geschnittene, oder bei dem nachweislich ersten Ausschlüpfen gefangene, also sicher unbefruchtete *Osmia cornuta*-Weibchen wurden in geräumigem Zwinger isoliert. Der Zwinger stand im Freien, enthielt die verschiedensten Nistgelegenheiten und an Futtervorräten männliche *Salix caprea*-Zweige (als Pollenpflanze) und *Viola odorata* (als Nektarpflanze). Der Versuch schien etwas gewagt, doch bei der Eigenart der *Osmia cornuta* nicht aussichtslos. Wie gesagt, wiederholte Nachtfröste machten ihm, trotz getroffener Vorsichtsmaßregeln, jeweils ein Ende. Doch stehen für den erwähnten Zweck noch andre Wege offen, die bei Gelegenheit versucht werden sollen.

Über anderweitige Beobachtungen zu berichten, wird in den kommenden Kapiteln der richtigere Ort sein.

3. Die Dzierzonsche Theorie.

Gilt die Dzierzonsche Theorie für die Einsiedlerbienen? Es könnte müßig erscheinen, die Frage für die Solitären gesondert aufzuwerfen und gar sie eigens zu behandeln, aber es sei, ganz abgesehen vom obigen historischen Rückblick, daran erinnert, daß hier gegenüber der Honigbiene manche biologische Besonderheiten vorliegen.

Die eine Kaste, die der Arbeiterinnen, fehlt bei den solitären Bienen. Die Bienenkönigin hat die Größe der Zellen nicht bestimmt und steht der gegebenen Größe erst in dem Augenblick gegenüber, in dem sie das Ei legt. Bei den solitären Apiden wird i. a. zuerst die Zellengröße bestimmt, oder doch, wenn eine vorhandene Zelle mit bestimmter Größe verwendet wird, eine der Zellgröße entsprechende Futtermenge, — die

Arbeit mehrerer Stunden — beigeschafft. Das Futter wird nicht nachträglich, von andern Individuen und einer andern Kaste (bez. *Apis* vgl. Dickel 1909 usw.), vorgearbeitet und zu wiederholten Malen gereicht. Wachs, das Ausscheidungsprodukt einer Kaste, kommt nicht zur Verwendung (Dickel 1901 usw.). Die Zahl der Nachkommen ist ungeheuer vermindert und die Geschlechtsproportion verschoben. Die Entwicklung ist bedeutend langsamer und viel mehr äußeren Eventualitäten ausgesetzt.

Die verwandtschaftlichen Beziehungen der solitären Apiden zur Honigbiene sind sicher ganz verschieden. Ja bei einem Teil der Solitären selbst gilt die Dzierzonsche Theorie nicht, denn *Halictus* besitzt einen Generationswechsel zwischen einer parthenogenetischen und geschlechtlichen Generation. Ganz eigne Verhältnisse zeigen überdies bezüglich der Brutversorgung die Schmarotzerbienen. Es ist also der Mühe wert, hier selbständige Untersuchungen anzustellen. Manches Licht dürfte dabei auch wieder auf dunkle, weil unkontrollierbare Umstände bei *Apis* fallen, z. B. läßt sich hier etwaiger Einfluß der Futtermenge und Futterqualität (beides bei *Apis* unkontrollierbar) ungleich leichter bestimmen. Speziell dürften manche Einwände und Erklärungsversuche Dickels hier gegenstandslos sein.

Es sei zudem noch einmal daran erinnert, daß es wichtig ist für die theoretische Deutung der cytologischen Befunde, eine möglichst sichere Kenntnis von der Herkunft der Männchen auch bei den solitären Apiden zu haben (s. o. S. 243f. und S. 249).

Bei den Tatsachen, die uns zur Erörterung der geschlechtsbestimmenden Ursachen bei solitären Bienen führten, gehen so viele Erscheinungen Hand in Hand, daß es nicht leicht ist, die richtige Fragestellung und noch weniger, die richtige Antwort zu treffen. Denn je nachdem man die Tatsachen willkürlich in ursächlichen Zusammenhang bringt, kann man zu einem wahren Gewirr von Theorien kommen. Es handelt sich hauptsächlich um folgende Tatsachen:

1. Hinten im Nest sind Weibchen,
2. die Weibchen sind größer,
3. hinten im Nest sind große Zellen,
4. hinten im Nest sind größere Futtervorräte,
5. die Weibchen erscheinen zuletzt.

Welche von diesen für gewöhnlich festzustellenden Tatsachen hat oder haben die andern zur Folge? Zunächst sei freilich festgestellt, daß (besonders wenn man noch die Experimente in Betracht zieht) kaum

eine einzige Tatsache streng allgemeine Geltung hat, so daß man an sich jeden Erklärungsversuch durch Gegeninstanzen umstürzen könnte.

Am weitesten verbreitet, nicht nur bei den Hymenopteren, und wie es scheint fast nie durchbrochen und von größter Wichtigkeit für die Arterhaltung, ist die Regel, daß die Weibchen zuletzt, nach den Männchen erscheinen; also sind offenbar deswegen die Weibchen hinten im Nest.

Die nächste Frage wird dann lauten: Was bewirkt, daß die Eier hinten sich zu Weibchen entwickeln? Ist es, wie es zunächst scheint, das reichlichere Futter oder etwas andres? — Das ist die Geschlechtsbestimmungsfrage.

Das Futter bestimmt nicht das Geschlecht, und zwar weder die Futtermenge noch die Futterart.

Die Futtermenge kann nicht in Betracht kommen, denn zunächst muß festgestellt werden, daß wohl durchschnittlich die Futtermenge der Zellen, in denen Weibchen entstehen, größer ist als die Futtermenge der andern, nach Fabre im Verhältnis von 3 : 2, aber tatsächlich kommen in einem Nest alle Übergänge vor, siehe z. B. Fig. b, wo die Zellgröße mit der größten Regelmäßigkeit abnimmt und Fig. a und c. Das gleiche konstatiert Popovici (1909).

Bei den Meliponiden, bei denen Dzierzons Theorie gilt, sind nach Silvestri (1902) überhaupt die Zellen für die Arbeiterinnen und Männchen gleich groß (vgl. auch oben Fabre, Punkt 1) und von Anfang an geschlossen. Das Geschlecht wird also hier sicher nicht durch das Futter bestimmt, und es kann auch nicht nachträglich etwa durch Secrete der Arbeiterinnen beeinflußt werden.

Die Kokongröße, ein genaueres Maß für die Futtermenge, zeigt nicht nur alle Übergänge, sondern nicht selten bei Weibchen kleinere Zahlen als bei manchen Männchen.

Die Längen der Nymphen eines *Osmia cornuta*-Nestes betrugen der Größe nach geordnet:

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
7,5	9,5	9,7	10,1	10,5	11	11	11,2	12,2	12,2 mm,

davon waren 1, 2, 3 und 6 Männchen. Die größte männliche Nymphe von *Osmia cornuta* maß etwa 13 mm, das kleinste Weibchen von *Osmia rufa* 8 mm.

Einigermaßen deutlich zeigen das auch die, freilich nicht zu diesem Zweck unternommenen, Versuche Popovicis (1910), der Nester von *Osmia*

rufa (Nr. 80—96) aufschnitt und einen Teil des Futterballs entfernte. Die Weibchen wurden kleiner, sind aber noch zahlreich vertreten.

Es ließ sich oft konstatieren, daß die Männchen (offenbar weniger häufig die Weibchen) den Kokon zu spinnen begannen, ehe sie die Futtervorräte ganz aufgenommen hatten. Dies würde dafür sprechen, daß die Menge der aufgenommenen Nahrung sich nach dem Geschlecht richtet und nicht umgekehrt. Der S. 253 erwähnte Versuch Nicolas' mit der Vertauschung der Eier beweist überdies, daß das Geschlecht auch unabhängig ist von etwa verschiedener Futterart.

Fabre endlich findet bei gewissen Wollbienen, wie erwähnt (s. o. S. 252 Nr. 3), überhaupt kleinere Weibchen als Männchen, geringe Futtermenge kann also nicht männchenbestimmend sein.

Wie passender im nächsten Abschnitt gezeigt wird, ist eine Beeinflussung des Eies durch das Futter hinsichtlich des Geschlechtes schon deswegen ganz und gar ausgeschlossen, weil das Geschlecht unwandelbar festgelegt ist, geraume Zeit ehe die Larve überhaupt zu fressen beginnt.

Aus den Tabellen versuchte ich einige Daten über die Geschlechtsproportion zu erhalten. Eine auffallende Tatsache trat dabei zutage: In jenen Nestern, hauptsächlich Popovicis Zusammenstellungen entnommen, die viele Lücken (= tote Larven oder unaufgezehrte Futtervorräte) zeigen, überwiegt die Zahl der Männchen so stark, daß das Geschlechtsverhältnis ♂ : ♀ manchmal von 1 : 2 (günstige Bedingungen), in 2 : 1 (ungünstige Bedingungen) umgewandelt erscheint[1]). Die Geschlechtsgrenze im Nest ist deutlich verschoben, denn die gewöhnliche Anordnung: zuerst Weibchen, dann Männchen ist offenbar auch unter diesen ungünstigeren Verhältnissen eingehalten. Die Verluste treffen, wie ein Blick auf die Tabellen lehrt, die Weibchen- und Männchenserien in gleicher Weise. Wäre der geschlechtsbestimmende Einfluß der Futtermenge überhaupt annehmbar, hier könnte man dann obige Verhältnisse unschwer folgendermaßen erklären: die Anzeichen deuten auf anormale Bedingungen, nicht der Temperatur usw. (denn sonst hätten auch die übrigen Nester gelitten), sondern am ehesten des Futters; das geringe oder schlechte Futter begünstigte das Entstehen der Männchen. — Da aber, wie erwähnt, die Futtermenge keinen Einfluß haben kann und eine andre Erklärung gesucht werden muß, wäre die Erscheinung genauerer Prüfung und Untersuchung wert. Man wird, die allgemeinere Gültigkeit

[1]) Die Geschlechtsproportion bei den einzelnen solitären Apiden scheint nach Müller (1872) zu schwanken, durchschnittlich beträgt sie in Übereinstimmung mit meinen Befunden etwa 1 : 1. Die Variationsbreite der Proportion ist freilich nicht unbeträchtlich.

der Beobachtung vorausgesetzt, die anormalen Verhältnisse suchen müssen beim bauenden Weibchen. Nebenbei könnte — um vorzugreifen — vielleicht noch in Betracht kommen ein Nichtfunktionieren des Receptaculum seminis, Anormalität der Eier, ihrer Mikropyle und ähnliches.

Nachdem durch FABRES verdienstreiche Experimente unzweifelhaft festgelegt ist, daß die Bestimmung der Zellen und ihres Inhalts normalerweise vom Weibchen abhängt, können alle etwa in Frage kommenden geschlechtsbestimmenden Ursachen, die ohne jede Beziehung zum Weibchen sind, wie z. B. Temperatur und ähnliches, ausgeschlossen werden.

Da, wiederum nach FABRE, weder ein progam festgelegtes Geschlecht (s. o. S. 252, Punkt 4), noch auch progam festgelegte Geschlechtsproportion angenommen werden darf (s. o. S. 252, Punkt 5), kann nur noch in Frage kommen, ob das Weibchen von dem Augenblick der Eiablage bis zur Fertigung des Zellverschlusses das Geschlecht des Eies beeinflußt. Man könnte an sich an eine Bespeichelung des Eies denken (»Befruchtung« nach DICKEL bei *Apis mellifica*), denn das Ei ist tatsächlich sorgfältig im Futterball festgeklebt (s. Fig. c). Aber abgesehen von allen Unwahrscheinlichkeiten, müßte hier diese Prozedur ganz anders vorgenommen werden als bei *Apis*, nämlich nur ganz kurze Zeit und nur von einem echten Weibchen (während »Befruchtung« durch Sekundärweibchen von DICKEL [1909] angenommen wird!). Und doch sollte es hier wie dort ähnliche Wirkungen haben?

Es bleibt nur mehr der Augenblick der Eiablage übrig. An sich könnten freilich Beeinflussungen des Eies vor sich gehen, die sich unsrer Erkenntnis ganz und gar entziehen: Wenn aber fakultative Parthenogenese bei Hymenopteren nachgewiesenermaßen weit verbreitet ist, z. B. bei *Halictus*; wenn ADAM (1912) gezeigt hat, daß auch *Osmia* beim Receptaculum seminis und seinem Ausfuhrweg Vorrichtungen besitzt, die in jedem Augenblick das Befruchten oder Nichtbefruchten nach Willkür des Weibchens ermöglicht, dann kommt für die Osmien und ihre auffallende Geschlechtsverteilung biologisch nur diese Art der Geschlechtsbestimmung ernstlich in Frage. Wenn zudem nun aufs neue unzweifelhaft festgestellt werden konnte, daß bei der so nahe verwandten Honigbiene die Eier der Drohnenzellen sich von denen der andern in dem Punkte unterscheiden, daß sie »nie« ein Spermium und nie eine Spur davon zeigen[1]), dann treten alle andern an sich so wenig wahrscheinlichen Möglichkeiten zurück, und es kann als bewiesen gelten, daß in diesem biolo-

[1]) Eine eigentümliche Art von Parthenogenese wies E. KRÜGER (1913) bei *Rabditis aberrans* nach: ein Spermium dringt ein, tritt aber nicht in Wirksamkeit, sondern geht bald zugrunde. Wäre ähnliches bei den Bienen der Fall, dann könnte man vielleicht

gisch so wichtigen Unterschied der geschlechtsbestimmende Faktor nicht nur bei *Apis mellifica*, sondern auch bei den solitären Bienen zu suchen ist.

An der »Willkürlichkeit« der Befruchtung oder Nichtbefruchtung wird festgehalten werden müssen (vielleicht nicht für alle Arten in gleicher Weise), obwohl manche Erscheinungen (auch die der Proterothesie), einfach durch Annahme des vorzeitigen Spermienverbrauchs erklärt werden könnten; das lehrt ein Blick auf die Tabellen, besonders die lehrreichen Nester Nr. 157—161 und 162—164 u. a. Es läge gewiß an sich nahe, anzunehmen, vorn im Nest liegen nur noch Männchen, weil die Spermien im Receptaculum seminis des eierlegenden Weibchens verbraucht sind, und nur noch unbefruchtete Eier gelegt werden können.

Daß aber die Zahl der übertragenen Spermien so gering ist, dagegen sprechen die Umstände bei der Paarung (die beobachtet wurden), auch z. B. Nest 164 mit seinen 25 Männchen und seinem ♀ an 17. Stelle, endlich die Morphologie des Hodens und Receptaculum seminis.

Trotzdem die Weibchen nicht deswegen in den hintersten Zellen entstehen, weil dort mehr Futter vorhanden, reichliches Futter aber weibchenbestimmend ist, so ist dies Sichzusammenfinden von Weibchen und viel Futter hinten im Nest offenbar einerseits durch das nachweisbare Nachlassen der Brutversorgungsenergie, anderseits besonders durch den für die Art aus der besseren Ernährung der Weibchen entspringenden Nutzen, erklärt. Also weil doch einmal die hintersten Zellen besser versorgt sind und weil es nicht gleichgültig ist, ob die Weibchen gut oder schlecht ernährt sind, so ist die Erscheinung verständlich, daß die weiblichen Individuen in Zellen mit reicherer Futtermenge und zwar im Anfange des Geleges, d. h. hinten im Nest auftreten. Dies ist die vorteilhafteste und auch die unter den solitären Apiden offenbar verbreitetste Art der Geschlechtsverteilung. Bei den anpassungsfähigsten Arten, wie z. B. bei *Osmia* kann dann noch eine kompliziertere Art der Geschlechtsverteilung ausgebildet sein und unter Umständen betätigt werden: Es kann dann, wie bei der Bienenkönigin, die Wahrnehmung einer großen Zelle (mit viel Futter) die nötigen Reflexe auslösen, daß ein befruchtetes Ei gelegt wird, und umgekehrt, wenn z. B. die Raumverhältnisse nur eine kleine Zelle zulassen.

Bei den Arten, die eine ausgeprägtere, willkürliche Bestimmbarkeit besitzen, allem nach z. B. *Osmia*, *Anthidium*, kommen darum Verhältnisse

---

manche Vererbungsanomalien bei *Apis* leichter erklären. Indes hätten Paulcke, Petrunkewitsch und Nachtsheim die Spur des eindringenden und degenerierenden Spermiums sicher ebenso wie Krüger cytologisch nachweisen können.

vor, die als Ausnahmen von dem primären Gesetze der Proterothesie erscheinen. Auf Grund der DZIERZONschen Theorie erscheinen auch solche »Widersprüche« begreiflich. FABRES Angaben über »*Osmia tridentata*« stimmen vielleicht nicht mit denen VERHOEFFS 1892a überein (siehe Tab. 6, wenn nicht ungenaue Artbezeichnung vorliegt, womit man bei Apiden rechnen muß). Eine Nachprüfung der Verhältnisse bei *Osmia tridentata*, die auch nach VERHOEFFS Angaben eigenartig zu sein scheinen, wäre wohl notwendig. Daß FABRE annähernd gleichmäßig große Zellen bei einer Art gefunden hat, daran ist nicht zu zweifeln, daß aber dann auch die Geschlechter im Gelege regellos verteilt sind, ist bei Annahme der Theorie DZIERZONS wohl begreiflich.

Es sei noch an die auf DZIERZONS Theorie fußende und so überaus einleuchtende Erklärung der merkwürdigen Bienenzwitter durch BOVERI 1902 erinnert. Das reife Bienenei ist auf alle Fälle geneigt zur parthenogenetischen Entwicklung. Der Furchungsprozeß beginnt stets, auch wenn kein Sperma ins Ei eindringt. Er kann auch begonnen haben, wenn ein Spermium zwar eingedrungen ist, seine Vereinigung mit dem weiblichen Vorkern sich aber verzögert hat. Nicht der weibliche Vorkern, sondern einer seiner »parthenogenetisch« entstandenen Abkömmlinge mag dann mit dem Sperma verschmelzen. Als Produkt der Entwicklung kann auf diese Weise ein Mosaik von männlichen und weiblichen Eigenschaften entstehen, wie sie manche Zwitter von *Apis mellifica* darstellen. Solche abenteuerlichen Zwitterformen sind aber auch für solitäre Bienen verschiedentlich beschrieben worden (s. z. B. FRIESE 1891b): Also auch BOVERIS Erklärung kann man so wohl fast als Probe für die Richtigkeit, jedenfalls aber als Beweis der Brauchbarkeit der DZIERZONschen Theorie betrachten.

III. Die Chromosomenverhältnisse bei der Spermatogenese.

1. Morphologie des Hodens und Daten zu seiner Entwicklung.

Der Hoden von *Osmia* besteht aus 6 gestreckten, parallel der Körperachse über dem Darm gelegenen Schläuchen, deren nach vorne gerichtetes blindes Ende spitz ausläuft. Je drei münden in eines der beiden Vasa deferentia, die gleich nachdem sie noch die Ausführwege einer umfangreichen, aufgeknäuelten Anhangsdrüse aufgenommen, zu beiden Seiten des Darmes abwärts verlaufen, um sich dann zu vereinigen und unpaar zu münden.

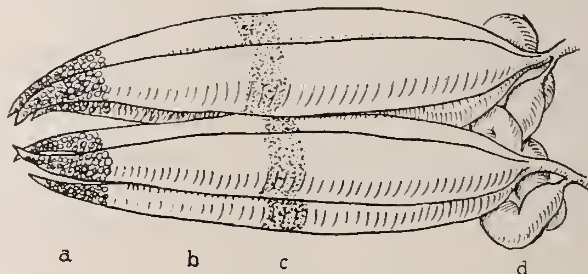
Die paarige Anlage des Hodens läßt sich noch bei den eben ausgeschlüpften Nymphen wohl erkennen, indem besonders im hinteren Teil

des Hodens die zwei Gruppen von je drei Schläuchen noch ziemlich weit auseinander liegen. Ein Hüllepithel umgibt die einzelnen Schläuche und die Gesamtheit der sechs, und umschließt dorsal außerdem noch eine homogene, offenbar der Ernährung dienende Masse. Später liegen die 6 Schläuche eng aneinander und bilden ein birn- bis spindelförmiges kleines Paketchen von etwa 1,8 mm Länge in ausgewachsenen Zustand (vgl. Textfig. D).

Diese Anlage der Keimdrüsen macht die solitären Apiden zu einem Objekt, bei dem die Orientierung über die verschiedenen Entwicklungsstadien der Keimzellen so einfach wie möglich ist:

Ein Keimlager findet sich ausschließlich im engen Schlauchende. Die Abkömmlinge ein und derselben Urkeimzelle bleiben nach den verschie-

Textfig. D.



Hoden von *Osmia cornuta* (Ex. 68) 11 Tage nach der Verpuppung rekonstruiert etwa 35fach, vom Rücken gesehen, das Hüllepithel ist abpräpariert gedacht.
a) Keimlager + Spermatocytenzone, *b*) Wachstumszone, *c*) Reifezone, *d*) Anhangsdrüsen.

denen Teilungsschritten stets beisammen, umgeben von Follikelzellen, deren Ursprung, dem Chromatingehalt der Kerne nach zu schließen, ein somatischer sein muß; sie bilden Spermatocysten, ganz wie sie bei *Apis mellifica* Meves 1907 beschrieben hat. Seine dort gegebene Abbildung könnte ohne weiteres auch für *Osmia* gelten. Auch die Fortsätze der Follikelzellen, die Follikellappen, finden sich hier und durchwachsen auch noch bei späten Stadien den ganzen Cystenraum. Für die Einzelheiten sei daher auf Meves 1907 verwiesen.

Die dort beschriebene kugelig-strahlige (bei Schnitten »rosettenartige«) Anordnung konnte vom 8-Zellenstadium an verfolgt werden bis zu einem vielzelligen (wahrscheinlich 64zelligen) Stadium. Die Zellen sind teilweise außerordentlich stark in die Länge gestreckt. Der weitere distale Teil enthält den stets ansehnlichen kugeligen Kern. Die Spindeln der Spermatogonienteilungen stehen immer radial (vgl. Henking 1891). Nach den letzten dieser Teilungen lockern sich allmählich die Zellen einer Rosette.

Die Follikel bleiben bestehen und auch die Spindelrestkörper, die von der letzten Teilung herrühren sollen, sind meistens noch sehr lange zu sehen.

Die Wachstumsphase, die dann beginnt, dauert lange, so daß die letzten Spermatogonienteilungen von den Reife- oder Spermatocytenteilungen durch einen breiten Zwischenraum getrennt werden, der ausgefüllt wird durch die langsam, aber deutlich größer werdenden Zellen.

Die Spermatocytenteilungen treten zuerst auf am Rand der Hodenschläuche. Die Teilung scheint verhältnismäßig rasch zu verlaufen. Recht bemerkenswert ist, daß die Zellen einer Cyste, die wie gesagt auch jetzt noch von den Follikelzellen umschlossen sind, fast immer ganz genau auf der gleichen Phase der Teilung stehen. Wo größere und kleinere Unterschiede bestehen, kann man dann schließen, daß gerade die betreffenden Phasen — nur bei bestimmten kommen solche Unterschiede vor — mehr oder weniger schnell vorübergehen. Die Ordnung, daß die dem Hodenausgang zunächst liegenden Cysten immer zuerst in Teilung eintreten, scheint stets genau eingehalten zu werden. Diese Zone, in der die Teilungsbilder auftreten, ist bei den einzelnen Röhren eines Hodens etwas verschieden breit; sie tritt bei allen in annähernd gleicher Entfernung vom Hodenursprung auf, (wie auch die andern sich entsprechenden Veränderungen).

Nach der Reifung wandeln sich die Spermatiden sofort in Spermatozoen um, die dann, immer in den typischen Bündeln vereint, und mit dem Kopf dem Hodenausgang zu gerichtet sind.

Eine Orientierung ist so unter allen Umständen mit Leichtigkeit möglich, am leichtesten natürlich bei längsgeschnittenem Hodenschlauch.

Zeitlich geht die Entwicklung der männlichen Keimzellen bei *Osmia* merkwürdig früh vor sich. Zur Erläuterung dieser für unsere Frage wichtigen Verhältnisse seien verschiedene Einzelheiten angeführt:

In einem typischen *Osmia*nest wurde am 18. 4. 1912, zu einer Zeit, wo außer der *Osmia cornuta* keine andre *Osmia* schon soweit entwickelte Brut hatte, eine junge Larve (Exemplar 51, Tab. 14) gefunden und fixiert, die schon einen Teil der Futtervorräte verzehrt hatte. Die meiste übrige *Osmia cornuta*-Brut, unmittelbar neben diesem Nest, war noch nicht aus dem Ei geschlüpft. Bei dieser allem Anschein nach noch ganz jungen Larve fanden sich doch schon im Hoden und zwar in seiner größten Ausdehnung vielzellige Rosettenstadien der Spermatocysten.

Im Hoden von Exemplar 55*b*, Tab. 14, das gleich nach der Verpuppung fixiert wurde, finden sich Teilungsbilder in den Spermatogonien und im Hüllepithel besonders zahlreich. Die Spermatocyten unmittelbar vor der Hodenausführstelle beginnen schon die Reifeteilungen.

Exemplar 68 zeigte etwa 11 Tage nach der Verpuppung schon ziemlich dunkelpigmentierte Augen. Der Hoden ist aus der Schnittserie in Fig. D rekonstruiert. Er ist, quer geschnitten, verteilt über 225 Schnitte von je 7,5 μ Dicke. Die Längenverhältnisse der einzelnen Hodenzonen ließen sich leicht durch Abzählen der Schnitte feststellen. Es erstreckt sich das Keimlager + Zone der rosettenförmigen Spermatocysten über 34 Schnitte (= $^1/_6$ der Hodenlänge), die Wachstumsphase über 62 (= beinahe $^1/_3$ d. H.), die Zone der Reifungsteilungen durchschnittlich über 18 Schnitte (= $^1/_{13}$ d. H.), beinahe die Hälfte des Hodens ist also mit gereiften Zellen bis fertigen Spermatozoen gefüllt.

Exemplar 71*a* enthielt fast keine Spermatogonienteilungen mehr. Das Ausschlüpfen aus der Larvenhaut hat sich hier der inneren Entwicklung gegenüber verspätet.

Bei Exemplar 72*d* (die endgültigen Thorax- und Kopfhaare unter der Nymphenhaut beginnen sich dorsal auszupigmentieren, s. Fig. o), ist die Neubildung von Keimzellen offenbar schon längere Zeit vorüber, und die jüngsten Zellen haben bereits die Wachstumsperiode begonnen. Der Hoden von Exemplar 80*a* (s. Fig. p) enthält schon über $^3/_5$ gereifte Zellen, zum größten Teil fertige Spermatozoen.

Eine am 23. August bei Straßburg ausgegrabene und aus dem Kokon geschnittene Imago enthielt bis in die letzten Enden der Schläuche nur ausgebildete Spermatozoen. Vier Monate sind vorüber, seitdem das Männchen aus dem Ei geschlüpft, und 7 Monate dauert es noch, bis seine Spermien zur Verwendung kommen!

Bei dem auffallenden Parallelismus der Spermatogenese bei *Apis mellifica* und *Osmia* wird man wohl einen gewissen Parallelismus bei der Ovogenese annehmen müssen. Wenn wir also Paulckes (1900) Ergebnisse über die Differenzierung der Zellelemente im Ovarium der Bienenkönigin auch auf die jungen Ovarien bei *Osmia* anwenden, dann ergibt sich, daß die Keimzellen so früh und so verschieden sich entwickeln, daß eine geschlechtliche Umprägung in postembryonaler Zeit unmöglich erscheint.

Weiter hat Petrunkewitsch (1902, S. 12) gezeigt, daß man das Geschlecht des *Apis*-Embryo schon morphologisch erkennen kann, bevor er ausgeschlüpft, d. h. bevor das Chorion verschwindet: Beim weiblichen Embryo sind nämlich die Geschlechtszellen viel geringer an Zahl, als beim männlichen.

Das gleiche fanden Carriere und Buerger 1887, welche »die Entwicklungsgeschichte der Mauerbiene (*Chalicodoma muraria* F.) im Ei« untersuchten. Hier münden die Vasa deferentia im 10. Abdominalseg-

ment, die Oviducte enden im 7. und weisen außerdem Terminalampullen auf, ausgesprochene, unveränderbare Geschlechtsunterschiede, die möglicherweise acht, sicher etwa vier Tage, bevor die Larve zu fressen beginnt, nachgewiesen werden können. Da nun die Hoden von *Chalicodoma* und *Osmia*, wie ich mich überzeugen konnte, keinen Unterschied aufweisen, so ist es mehr als wahrscheinlich, daß auch bei *Osmia* die sexuelle Differenzierung schon ebenso frühzeitig erkennbar sein wird.

Die Behauptungen vom zwitterigen Charakter früher Stadien (Dickel bes. 1910, Verhoeff 1892b und Pflueger 1903) und von wesentlichem Einfluß der Futtermenge auf das Geschlecht, werden also durch histologisch-ontogenetische Untersuchungen mit aller wünschenswerten Klarheit widerlegt.

Bei denjenigen Tieren, wo ursprünglich geschlechtlich indifferente und später erst verschieden verlaufende Entwicklung vom Keimzellen beschrieben wurde (z. B. Schleip 1911, Krüger 1913, Demoll 1912), da liegen ganz und gar andere Verhältnisse vor.

2. Die Spermatogonienteilungen.

In der Gegend des Keimlagers sieht man dicht aneinander gedrängte Kerne, im übrigen aber keine deutlichen Strukturen, also keine Zellgrenzen usw. und noch weniger Unterschiede zwischen den verschiedenen Zellarten. Zudem ist hier noch alles außerordentlich klein. Speziell ein Unterschied zwischen Hüllepithel und Keimzellen läßt sich schwerlich erkennen, auch kein solcher zwischen Keimzellen und Follikelzellen. Die beginnende Spermatocystenbildung zeigt sich in der unmittelbar folgenden Zone dadurch an, daß man auf Schnitten vier Zellen etwas isoliert von den übrigen sich eng aneinander schließen und gegenseitig, besonders der Mitte zu, abplatten sieht. Das Chromatin erscheint in wenigen unregelmäßig geformten Schollen verteilt. Nach all dem Genannten ist es begreiflich, daß die ersten Spermatogonienteilungen kaum auffindbar sind. Die vielzelligen Cysten sind aber einer genaueren Untersuchung etwas leichter zugänglich. In dem, freilich nur im Verhältnis zum Plasmaleib »großen«, kugeligen Kern ist das Chromatin auf der Peripherie und zwar schon etwas feiner verteilt. Man kann einige Stränge (Fig. 1, 2), besonders auf den dem Beschauer zu- und abgewandten Kuppen der Kernkugel erkennen. Bei Stadien kurz vor den letzten Spermatogonienteilungen, wo die Chromosomen offensichtlich schon herausdifferenziert sind, und die Größenverhältnisse die Beobachtung etwas erleichtern, kann man zwar nicht eine exakte Zählung, aber doch eine Schätzung wagen. Denkt man sich der Kernkugel einen Würfel eingeschrieben und betrachtet jede der

den 6 Würfelflächen zugeordneten Kernkuppen, für sich, bei 2 ist es wie gesagt leicht, dann liegen durchschnittlich auf jeder Kuppe 2—3 Chromosomenstränge. Daß diese nicht zusammenhängen, kann sicher deswegen angenommen werden, da so häufig einzelne Stücke immer von der gleichen Länge festzustellen sind, auch wenn man garnicht die einseitig angeschnittenen Kerne, die es am deutlichsten zeigen (Fig. 2), berücksichtigt. Am Rand des Kernumfangs erscheint das Chromatin wegen der perspektivischen Verkürzungen angehäuft. Das Vorhandensein eines Nucleolus (vgl. Meves 1907, Mark und Copeland 1906, Lams 1908) oder gar zweier (Meves und Duesberg 1908) ist hier nicht nachzuweisen. Unsre Schätzung würde uns demnach auf die Zahl 12—18 Chromosomen führen. Die Kernmembran ist stets deutlich (Fig. 3), besonders dann, wenn die Chromosomen beim Eintritt in die Teilung von der Kernperipherie der Mitte zu verlagert werden; auf diesem Stadium bildet das Chromatin nicht mehr Stäbchen, sondern rundliche Anhäufungen von etwas unklaren Umrissen. Die Zahl ist hier schon verhältnismäßig sicher festzustellen, sie kann nicht weit von 16 entfernt sein. Es ist kaum daran zu zweifeln, daß die stäbchenförmigen Chromosomen sich zu kompakten Gebilden zusammen gezogen haben. Äquatorialplatten folgen unmittelbar auf das beschriebene Stadium. Die achromatische Figur ist nicht ganz symmetrisch, denn das eine der hier nachweisbaren »Centriolen« (in der Terminologie von Meves), das der Cystenmitte genäherte, ist etwas weiter von der Äquatorialplatte entfernt als das distale. Eine Polstrahlung ist vorhanden, aber sie ist minimal. Die Polansicht ist bei Sublimat- und Flemmingscher Fixierung deutlich verschieden. Im ersten Fall, Fig. 5, sind die Chromosomen eng beisammen gelagert und aufgequollen und der Gestalt nach nicht näher zu erkennen, im andern Fall (Fig. 6, 7), schärfer umgrenzt, schmäler und etwas in die Länge gezogen. Offenbar ganz entsprechende Bilder hat Meves bei *Apis* gesehen und auch Granatas Abbildungen besagen ähnliches. Der Form und dem Volumen nach dürften die Chromosomen von *Osmia cornuta* zwischen denen von *Apis mellifica* und *Xylocopa violacea* stehen. Die Zahl kann schwerlich eine andere als 16 sein. — Die Tochterplatten (Fig. 8), die verhältnismäßig weit auseinanderrücken und durch ein deutliches Bündel paralleler Fasern verbunden sind, zeigen ebenfalls gut zählbar etwa 16, hier zweifellos rundliche Chromosomen. Die neue Generation der Spermatogonien ist immer deutlich kleiner als die alte, und schon diese Größenunterschiede weisen in den Präparaten auf die Nähe von Teilungsbezirken hin.

Aber auch sonst kommen Schwankungen in der Zellgröße vor, (bei gleicher Fixierung), z. B. scheinen am Rand der Hodenschläuche die

Zellen etwas kleiner zu sein. (Über somatische Zellen und Zellteilungen, die in der Nähe dieser Zone auftreten, wird weiter unten zu handeln sein.)

3. Die Wachstumsperiode.

Nach den letzten Spermatogonienteilungen lockern sich die Rosetten nach und nach auf. Der Plasmakörper der jüngsten Stadien ist im Vergleich zum Kern noch sehr klein. Ihr Chromatin ist genau wie in den Kernen der Spermatogonien vor der letzten Teilung angeordnet, nämlich als deutliche, kurze Stränge an der Kernoberfläche. Die Bilder sind so ähnlich den oben beschriebenen, daß erst sorgfältiges Zusehen den Zweifel beheben kann, ob man Zellen vor oder nach der letzten Spermatogonienteilung vor sich hat (Fig. 9).

Diese Chromatin-Anordnung kann die ganze Wachstumsperiode hindurch nachgewiesen werden. Auf allen Präparaten ist sie freilich nicht zu sehen, Sublimatmaterial mit Eisenfärbung (Fig. 14) zeigt sie bei nicht zu starker Differenzierung am deutlichsten. Hier sehen die Stränge, oder besser die »gekrümmten Stäbchen«, tief schwarz aus; bei jungen Stadien sind sie dichter beisammen, bei ältern Stadien, weil die Stäbchenlänge während der Vergrößerung des Kernes gleich zu bleiben scheint, weiter verteilt. Die Stäbchen sind später mannigfach geknickt oder gebogen, an den Enden vielfach etwas verdickt. Bei starker Differenzierung kann die chromatische Substanz fast ganz zum Verschwinden gebracht werden, so daß es nur noch punktförmig da und dort auf dem nach wie vor deutlichen Liningerüst verteilt ist. Eben darum zeigt sich unsere Chromatinanordnung nicht auf Präparaten, die dem Studium der Äquatorialplatten dienen, denn hier ist starke Differenzierung, vgl. Fig. 17, nötig. Bei Sublimatbildern mit Delafieldscher Hämatoxylinfärbung benötigt man nicht so vieler Differenzierungsstufen, man bekommt also fast stets die Stränge. Bei gelungenen, mit Pikrokarmin nachgefärbten Präparaten waren die Chromosomen dunkelblau, die Lininfäden, die ein zartes Gerüst im Kerninnern bilden, schwach rosa gefärbt (Fig. 11). Bei Fixierung mit Flemmingschem Gemisch, und zwar demselben, das Meves angibt und zum Studium der Chromosomen benutzte, und mit Herrmanschem Gemisch erwiesen sich diese Stränge als weniger homogen, sie scheinen aus aneinandergereihten Kügelchen und Körnern (Fig. 12, 13, 15) zu bestehen (Flemming mit Hämatein) oder weisen doch eine unebene, seitliche Begrenzung auf (Hermann mit Eisenhämatoxylin). Differenziert man stärker, dann werden sie bis zu einem gewissen Grade (Fig. 12) dünner und verschwinden endlich. In keinem Falle zeigt sich eine Längsteilung oder

etwas, das auf einen Längsspalt hindeutet; während MEVES 1907 bei *Apis* eine deutliche Längsspaltung zeichnet.

Die gleichen Stäbchen hat offenbar MEVES 1907 bei *Apis* gesehen. Das Volum ist auch hier etwas kleiner, die Lage und allgemeine Gestalt und vor allem die Zahl ist dieselbe. Bei *Vespa* liegen im ersten Teil der Wachstumsperiode bemerkenswerte Eigentümlichkeiten vor[1]) (nach MEVES und DUESBERG 1908), später sind ebenfalls abgegrenzte Stränge zu sehen.

GRANATA (1909, *Xylocopa violacea*) zeichnet ein Liningerüst und, wohl unterscheidbar davon, mannigfach gewundene Chromatinstränge. Deutlich abgesetzt sind sie freilich nicht wiedergegeben, das eine oder andre Mal ist der Verlauf scheinbar parallel. Die extracellulären Bläschen, s. u. S. 284, sind hier schon vorhanden, also sind es nicht mehr ganz frühe Stadien, wie auch die Größe besagt. Bald darauf sind die etwa 16 Stränge deutlich zu sehen. Der hierzu beigegebene gar knappe Text macht es wahrscheinlich, daß GRANATA diese Einzelheiten weniger untersucht und ähnliche Verhältnisse wie bei *Osmia* nicht ausgeschlossen sind (vgl. auch BUCHNERS Rezension der Arbeit GRANATAS 1910, Arch. f. Zellf. V, 5, S. 483). *Camponotus herculeanus* stimmt mit *Osmia cornuta* offenbar fast ganz hierin überein, vgl. LAMS, Fig. 3, 22. Die späteren Stadien von *Xylocopa* und die von *Camponotus* weisen sicher keinen Längsspalt auf.

Es wurde viel Mühe darauf verwandt, bei *Osmia* etwas ähnliches wie bei *Apis*, s. o. S. 273 f, zu finden, da dieser Längsspalt von nicht geringem Interesse gewesen wäre, aber es ließ sich nichts entdecken. Ebensowenig lagen irgendwelche Anhaltspunkte vor, an eine paarweise Gruppierung der 16 Stränge, etwa zu 8 Doppelstäben oder ähnliches denken zu dürfen. Es braucht wohl nicht bemerkt zu werden, daß in Fig. 11 der eine Teil der scheinbar paarweise gelagerten Stränge auf der vorderen (»hoch«), die andern auf der hintern Kernhalbkugel (»tief«), also weit auseinander, liegen. Die konstante Zahl 16, die konstante Größe und Form, der Vergleich mit *Apis*, *Camponotus*, *Xylocopa* und auch *Vespa*, namentlich aber auch das weiter unten zu Behandelnde lassen keinen Zweifel, daß wir es hier bei den Strängen schon mit den Chromosomen, freilich nicht in ihrer endgültigen Gestalt, zu tun haben, und daß hier bei *Osmia* die Chromosomen in ihrer Individualität während der ganzen Wachstumsperiode nachweisbar erhalten bleiben, wahrscheinlich auch, wenngleich weniger sicher zu erkennen, in der Vermehrungsperiode.

[1]) Es sind zwei Nucleolen vorhanden, um den einen ist das Chromatin dicht angehäuft, allmählich lockert es sich von ihm strangweise los; dieser eine Nucleolus nimmt dabei an Volum ab, der andre zu.

Ähnliches hat z. B. Montgomery 1899 bei *Pentatoma*, Rückert 1892 bei Oocyten von Selachiern, Stevens 1903 bei *Sagitta* nachgewiesen.

Die Wachstumsperiode zeichnet sich also bezüglich der Chromatinverhältnisse durch die denkbar größte Einfachheit aus. Von all den komplizierten Umgestaltungen, die das Chromatin in dieser Periode durchzumachen pflegt, ließ sich keine Andeutung finden, z. B. keine Synapsis, keine Längsspaltung, kein Bukettstadium und keine Chromosomenkonjugation. Hängt manches an dieser Erscheinung vielleicht mit der Herkunft der männlichen Chromosomen zusammen? (Konjugationshypothese Montgomerys.) Wie aus dem Gesagten schon hervorgeht, ist ein Nucleolus, wenigstens ein deutlicher, von Anfang an nie vorhanden.

Das Protoplasma ist bei jungen Spermatocyten durchaus gleichmäßig fein granuliert, später weitmaschig und ungleich dicht (Fig. 12). Am Ende dieser Periode liegt der Kern ziemlich in der Mitte der beträchtlich herangewachsenen Zellen. Das Volumverhältnis von Kern und Plasma hat sich im Verlauf der Wachstumsperiode gerade umgekehrt.

4. Die Reifeteilungszone.

Eine neue Teilungszone wird in dem Hodenschlauch unzweideutig durch das Auftreten von Strahlungen im Protoplasma der Keimzellen angekündigt. Am deutlichsten sind sie zu sehen bei Hermannscher Fixierung und Eisenhämatoxylinfärbung. Die beiden Polstrahlungen treten nicht zugleich auf, auch zeigen die hierfür geeigneteren Bilder mit Hermannscher Fixierung, daß wohl beide Strahlungen nicht auf der Peripherie auftreten, sondern mehr oder weniger dem Kern genähert (Fig. 26—33). Die anderwärts näher beschriebenen extracellulären Bläschen sind jetzt häufiger nachzuweisen (Fig. 26, 27, 31). Anfangs zeigt sich am Chromatin keine Veränderung. Die 16 Stränge oder geknickten Stäbchen liegen an der Peripherie des Kernes. Dann beginnen sie ihre Lage und Gestalt zu verändern und zwar fast immer zu einer Zeit, wo bei jeder Fixierungs- und Färbungsweise eine doppelte Polstrahlung mehr oder weniger deutlich zu erkennen ist. Wenn die Spindel vollständig aufgestellt ist, zeigen die Chromosomen, die sich zur Äquatorialplatte anordnen, bei all den vielen Bildern dieses Stadiums, deutlich kugelige Gestalt, und zwar zeigt selbst ein flüchtiger Blick, daß es mehr als 8 an Zahl sein müssen.

Der nähere Vorgang dieser Chromosomenumgestaltung ist von großer Wichtigkeit für die richtige Deutung des Reifungsprozesses und soll im folgenden eingehender erläutert werden. Wohl ist das genauere Studium dadurch erschwert, daß diese Vorgänge offenbar besonders rasch vor sich gehen. Dies kann man nämlich daraus erkennen, daß in ein und derselben

Cyste Zellen mit langgestreckten und Zellen mit kugeligen Chromosomen samt den überleitenden Zwischenstadien sich finden können, während sonst die Zellen derselben Cyste fast ganz genau die gleiche Phase des Teilungsvorganges zeigen. Überdies macht es bei Präparaten mit Flemmingscher und Hermannscher Fixierung einigermaßen Schwierigkeiten, alle Übergangsstadien so lückenlos zu erhalten, daß man sich eine genaue Vorstellung des Umbildungsvorganges machen kann. Viel zahlreicher findet man Bilder mit diesen Stadien bei Objekten, die mit warmem Sublimat fixiert waren. Aus ihnen kann man leichter lückenlose Übergangsreihen aufstellen.

Darum sei zum Studium gerade dieses Stadiums den Sublimatpräparaten der Vorzug gegeben. Zur Kontrolle sind auch Figuren nach Präparaten mit anderer Fixierung beigegeben. Wenn die Chromosomen schon zur Äquatorialplatte aufgestellt sind, lassen sich bei Sublimatfixierung die Einzelheiten nicht mehr näher verfolgen, weil dann die Chromosomen meist ganz aufeinander gedrängt erscheinen. Daß es sich hier sicher um Schrumpferscheinungen handelt, geht daraus hervor, daß bei Sublimatbildern die Spindel viel schmäler erscheint und die Spindelfasern stets Verzerrungen aufweisen, während die normale Gestalt, die man offenbar bei Hermannscher Fixierung erhält, wesentlich anders aussieht (s. z. B. Fig. 41).

Die Gefahr, falsch zu seriieren, ist so gut wie ausgeschlossen, weil wie erwähnt die verschiedenen Etappen oft in den Zellen ein und derselben Cyste vorhanden sind, und daraus hervorgeht, daß es sich nur um zeitlich ganz nahe beisammenliegende Stadien handeln kann. Auch die Ausbildung der achromatischen Figur gibt genaue Auskunft über das Alter der Stadien.

Nach diesen, wie ich glaube, notwendigen Vorbemerkungen sei der Vorgang der Chromosomenumwandlung ganz kurz vor der Aufstellung der Teilungsspindel an der Hand von Fig. 21—25 besprochen, die entsprechenden Zellen gehören alle zu einer Cyste, ihr Lageplan ist in Fig. 20 angegeben. Das jüngste Stadium ist offenbar das von Fig. 21. Die doppelte Polstrahlung ist auch bei der angewandten Delafieldschen Hämatoxylinfärbung schon zu erkennen, die Chromosomen haben bis auf vereinzelte Ausnahmen die langgestreckte Gestalt und liegen auch noch ziemlich peripher. Die einzelnen Stränge sind nicht mehr so regelmäßig gleich lang wie früher, daher ist auch ihre Dicke dementsprechend verschieden. Keinerlei Gruppierung der Chromosomen zu Paaren ist zu erkennen.

Auf Fig. 22 beginnt sich der Kern auf einer Seite in die Länge zu ziehen. Die Chromosomen haben nur noch zum Teil eine deutlich längliche Gestalt, schon ungefähr die Hälfte ist kürzer und gedrungener, sie liegen immer

noch peripher. Ein deutliches Chromosomenpaar scheint am unteren Kernrand aufzutreten, die 2 Chromosomen liegen jedoch im Präparat ziemlich weit voneinander entfernt und scheinen nur infolge der Projektion auf die Zeichenebene einander genähert.

In Fig. 23 sind die Chromosomen schon in das Kerninnere gerückt. Während mehrere schon ganz abgekugelt sind, weisen mindestens zwei noch deutlich die ursprünglich dünne, gestreckte Gestalt auf. Diese beiden liegen im Präparat einander zwar nicht parallel, aber doch benachbart. Auf späteren Stadien kann, wie noch zu zeigen sein wird, eine Paarung der Chromosomen sicher festgestellt werden, darum könnte man aus Bildern, wie dem vorliegenden, auf eine Tendenz zur Paarung bereits in diesen früheren Stadien schließen. Schon aus den besprochenen Bildern geht offenbar hervor, daß jedes stäbchenförmige Chromosom sich verkürzt und an Dicke zunimmt, also sich zu einer mehr kugeligen Gestalt zusammenzieht.

In Fig. 24 weist bereits keines der etwa 16 Chromosomen seine ursprüngliche Gestalt auf, sondern alle sind mehr oder weniger verkürzt. Ein Chromosom besitzt auf dieser Figur (rechts unten am Rand) vereinzelt auch in andern Zellen eine biskuitartige Gestalt. Solche Formen müssen notwendigerweise entstehen, wenn stäbchenförmige Chromosomen, die vielfach an den Enden verdickt sind, sich verkürzen. Etwaige Zweifel, ob man es dann noch mit einem einzelnen, biskuitförmigen, oder schon mit einem Chromosomenpaar zu tun hat, werden durch die Berücksichtigung der Gestalt und Zahl der übrigen Chromosomen behoben.

In Fig. 22—24 ist in der Mitte der Kernvacuole, deren Membran noch stets erhalten ist, eine unklare Anhäufung von einer ganz schwach sich färbenden Substanz zu sehen. Ganz kleine hintereinander liegende Granula, die man in der Kernmitte von Fig. 24 (auch wohl Fig. 26) sieht, könnten vielleicht den Gedanken nahelegen, es würden kleinste Chromatinteilchen von den sich umwandelnden Chromosomen abgestoßen. Die Umrisse der Chromosomen sind auch meist mehr oder weniger verschwommen.

Zu den vorgerücktesten Stadien der Cyste gehört das der Fig. 25 (oben etwas angeschnitten, der eine Spindelpol fehlt deshalb). Die kugeligen voluminösen Chromosomen liegen im allgemeinen aneinander gedrängt und zwar wie es scheint paarweise, schon annähernd in einer Ebene senkrecht zur Spindelaxe. In der Figur sieht man schräg auf diese Ebene. Die Chromosomen ordnen sich jetzt also in die Äquatorialplatte ein. Bei einer andern (hier nicht wiedergegebenen) Äquatorialplatte derselben Cyste sind die Chromosomen schon so dicht aneinander gedrängt, daß Einzelheiten nicht mehr zu erkennen sind. Die genannten durch Sublimatfixie-

rung verursachten Schrumpfungserscheinungen treten bei diesen Stadien auch schon so hervor, daß es sich nicht verlohnt, die genauere Gruppierung der Chromosomen auf Sublimatbildern zu verfolgen.

Zunächst muß aber noch die Zuverlässigkeit der jetzt besprochenen Figuren durch Vergleich mit Präparaten andrer Fixierung und Färbung festgestellt werden.

Fig. 33 (obere Zelle), Fig. 27 und 28 entstammen Präparaten mit Flemmingscher Fixierung; die Färbung ist verschieden. Über das Alter der Stadien gibt die Lage im Hodenschlauch, die unmittelbare Nähe der Äquatorialplatten, die Ausbildung der achromatischen Figur und Gestalt des Kerns hinreichende Auskunft. Die Chromosomen werden nach der Kernmitte zu verlagert, und auch hier treten mehr langgestreckte Formen neben den kurzen oval- bis kugelförmigen auf (vgl. auch S. 295).

Ähnliches ist aus den Hermannschen Fig. 26 und 30 zu ersehen (vgl. aber auch S. 279).

Sublimatbilder mit Eisenfärbung entsprechen durchaus den oben genau besprochenen, die mit Delafieldschem Hämatoxylin gefärbt waren (z. B. Fig. 18 und 19).

In Fig. 17 sind die Chromosomen voluminöser als gewöhnlich, weil das betr. Präparat schwächer differenziert wurde. Bei diesem ganzen Verlauf der Chromosomenveränderung ist, wie offenbar aus den Abbildungen hervorgeht, die Zahl und Individualität der Chromosomen erhalten geblieben. Die Umrisse der Chromosomen werden, wie erwähnt, zwar manchmal weniger deutlich und zum Teil verdecken sich auch die Chromosomen besonders dann, wenn sie in die Kernmitte rücken, und es ist darum nicht immer die Zahl 16 so direkt abzuzählen, wie vorher oder nachher, aber jedenfalls sind mindestens 12—14 in allen Fällen leicht festzustellen. (Vgl. auch S. 291.)

Bilder von Äquatorialplatten finden sich häufig, dieses Stadium scheint also lange zu dauern. Für das Studium der Chromosomen sind, wie erwähnt, hier Sublimatpräparate weniger geeignet, aber auch die mit Hermannscher Fixierung sollen, soweit Chromosomenfragen in Betracht kommen, nach Meves' Vorbild nicht berücksichtigt werden. Denn so wertvoll, ja unentbehrlich diese Fixierungsart für das Studium anderer cytologisch-morphologischer Einzelheiten ist, so pflegt sie doch die Lichtbrechungsverhältnisse eigenartig zu beeinflussen (vgl. z. B. Fig. 43, 26, 31, 40). Die Chromosomen verhalten sich zwar an sich gleich wie bei Flemmingscher Fixierung, erscheinen aber bei Eisenfärbung nicht tief schwarz, sondern braun, und zwar glasig durchsichtig, so daß sie optisch

oft wie kleine Linsen wirken. Eine Zählung ist vielfach nicht schwer, aber im allgemeinen ist Vorsicht hierbei nötig wegen der auftretenden Reflexe.

Es seien also für das unmittelbar Folgende nur Präparate beigezogen, die mit FLEMMINGscher Flüssigkeit, und zwar fast ausschließlich in der Modifikation fixiert sind, wie sie MEVES (1907) benutzte und zum Studium speziell der Chromosomen empfahl (vgl. seine Tafel XXIV). Die Gestalt der Chromosomen ist auf diesem Stadium genau kugelig oder vereinzelt schwach oval, das Volumen zeigt nur geringe Schwankungen (s. Fig. 32 bis 39).

Bei allen Figuren läßt sich leicht ersehen, daß die Zahl immer noch beträchtlich höher ist als 8, daß also nirgends eine Pseudoreduktion stattgefunden hat. Die Polansichten von Fig. 34 und 35 weisen mit hinreichender Deutlichkeit die Zahl 16 auf. Die Chromosomen liegen ziemlich nahe beisammen und auch meist annähernd in einer Ebene, so daß eine Gruppierung, besonders wenn man auch die Seitenansichten noch in Betracht zieht (z. B. Fig. 32, 33), nicht ohne weiteres bei allen Bildern klar zutage tritt.

Oft genug ist aber, offenbar bei Bildern ganz kurz vor Beginn der Anaphase, eine paarweise Anordnung ganz klar zu erkennen. Je 2 Chromosomenkugeln erscheinen enger aneinander geschlossen, und die Längsachse solch eines Gebildes liegt dann nicht mehr genau in der Ebene der Äquatorialplatte, sondern dreht sich aus ihr heraus, bis sie parallel mit der Spindelachse, also senkrecht zur Äquatorialplatte, steht (s. z. B. Fig. 35, 36 wohl auch Fig. 34). Dieses Zusammenrücken von 2 Chromosomen zu einem deutlichen Paar, zu einer Art Dyade, findet vielleicht nicht immer genau zu gleicher Zeit statt, auf alle Fälle sind bei den früheren Stadien der Äquatorialplatten fast stets 16 Einzelkugeln zu sehen (Fig. 32, 33 auch Fig. 30, 40, 41 obere Zelle) und auf den späteren 8 deutliche Paare in typischer Lage (Fig. 36 auch Fig. 41, untere Zelle). (MEVES 1907, DONCASTER 1906, LAMS 1908, MEVES, DUESBERG 1908.)

Der Verlauf der Anaphase ergibt sich klar aus Fig. 30—42, welche Stadien zeigen, die in großer Zahl zu finden waren. Nachdem die Chromosomenpaare in der Teilungsrichtung so aufgestellt sind, daß 8 Einzelchromosomen nach der einen, 8 nach der andern schauen (Fig. 36), rücken sie auseinander. Fig. 36—38, in ihrer gegenseitigen natürlichen Lage wiedergegeben — der Hodenausgang liegt rechts —, zeigen dies mit aller Klarheit.

Aus Fig. 37 läßt sich erkennen, daß an den Chromosomen keinerlei Veränderung vor sich geht, sondern daß es sich lediglich um ein Aus-

einanderrücken der Chromosomenkugeln handelt, die sich kurz vorher aneinandergelegt haben.

Durch die Anaphase werden die 16 Chromosomen in 2 Gruppen von je 8 Chromosomen getrennt, so daß in jedes Teilstück nur noch 8 Chromosomen gelangen (Fig. 38, 39, 42). Es liegt also eine Herabsetzung 1. der Chromatinmasse, 2. der Chromosomenzahl auf die Hälfte vor, also eine Reduktionsteilung. Dieser Reduktionsteilung geht, mindestens in den meisten Fällen, eine Paarung der Chromosomen voraus, so daß also hier ein Reduktionsmodus vorliegt, wie ihn Korschelt bei *Ophyotrocha* beschrieben hat. Manchmal, wo die Paarung weniger deutlich war, schien es freilich, als hätte man den sogenannten Weismannschen Reduktionstypus vor sich.

Die Zahl 8 ist in den Tochterplatten vielfach noch auf späteren Stadien der Anaphase zu erkennen (Fig. 42), vereinzelt noch nach Abschluß des Teilungsvorgangs (Fig. 45 wohl auch Fig. 44, größeres Teilstück). Die Umrisse der Chromosomen werden freilich bald undeutlich (Fig. 45) und die Gestalt unregelmäßig, wahrscheinlich wieder länglich (Fig. 44).

Zur Zeit der beginnenden Anaphase wölbt sich am einen Spindelende eine Plasmaausbuchtung vor. Die hierdurch entstehende Knospe nimmt 8 Chromosomen auf und schnürt sich nach und nach vollständig von der Mutterzelle ab, der ebenfalls 8 Chromosomen verblieben sind. Die Teilprodukte sind also hier ganz und gar ungleich wie bei *Apis*, *Bombus* und *Xylocopa*, während bei *Vespa* und *Camponotus* die Teilstücke von gleichem Volumen sind und auch sonst sich durch nichts unterscheiden lassen (Meves 1903 und 1907, Meves und Duesberg 1908, Mark und Copeland 1908, Lams 1908). Das Verhalten der achromatischen Figur beim Teilungsvorgang ist eingehend, hauptsächlich von Meves, beschrieben. Fast alles ließ sich auch hier nachweisen. Die zuerst auftretende Polstrahlung beherrscht zunächst den Vorgang. Gegen diesen Pol zieht sich die Kernkugel zuerst in eine Spitze aus, und auf dieser Seite zeigen sich zuerst die Kernfasern. Die Kernmembran bleibt wohl auch hier während der Anaphase noch erhalten (s. Fig. 43 und vgl. Meves und Duesberg 1908). Die Zwischenfasern zwischen den Tochterplatten zeigen auch gegen Ende der Abschnürung die knötchenförmigen Verdickungen. Diese Knötchen schließen sich jedoch hier nicht zu einem deutlichen, wohlfärbbaren Ring zusammen. (Meves 1907, Meves und Duesberg 1908.) Die theoretische Bedeutung der Chromosomenverhältnisse bei dieser so wichtigen und so eigenartigen Kernteilung soll später behandelt werden.

Das Abschnüren einer kernhaltigen Knospe, eines »Richtungskörpers« bei der Reifung männlicher Keimzellen ist also auch bei *Osmia* nachge-

wiesen. Jedoch fand man, wie oben S. 243 erwähnt, bei der Honigbiene (hauptsächlich Meves 1903 a und b, 1907) bei der Wespe (Meves und Duesberg 1908), bei der Ameise (Meves und Lams 1908) und bei *Xylocopa* (Granata 1909), daß vor der mit Kernteilung verbundenen Reifungsteilung ein abortiver, anormaler Teilungsvorgang, das Ausstoßen eines kernlosen »ersten« Richtungskörpers vorhergeht.

Ich hatte erwartet, etwas Ähnliches bei *Osmia* zu finden, aber es ist nicht sicher, ja eher unwahrscheinlich, daß die Bildung einer kernlosen Knospe vor dem oben ausführlich beschriebenen Teilungsvorgang stattfindet.

Zur näheren Untersuchung dieser Frage sind die Präparate mit Sublimat und Flemmingscher Fixierung ungeeignet, weil sie trotz aller Vorbeugungsmittel eine Schrumpfung des Objekts zur Folge haben, und die Zellen hier gar zu sehr ineinander gedrängt werden; um so brauchbarer ist hier wieder die Hermannsche Fixierung. Man findet nun in der Reifungszone zwischen den einzelnen Keimzellen wohl mancherlei Körperchen, die beachtet werden müssen. Sie können aber nicht ohne weiteres als »kernloses, erstes Richtungskörperchen« angesehen werden. Denn das einemal erwiesen sie sich nur scheinbar als runde, den Zellen ansitzende »Knospen«, in Wirklichkeit waren es optische Querschnitte durch die Follikellappen (s. o.). Zudem saßen sie vielfach an Zellen der Wachstumsperiode mit typischen Ruhekernen. In andern Fällen waren es sicher nur angeschnittene, kernlose Fragmente vom »2. Richtungskörper«. Ferner ließ es sich auch hier zeigen, daß die »2. Richtungskörper« an der Gegend der Zellperipherie ausgestoßen wurden, wo der alte Spindelrestkörper saß, und dieser täuschte zuweilen eine kernlose Knospe vor (s. auch Meves, Fig. 59). Daher sind die Bilder, die scheinbar eine Zelle mit 2 hintereinander hängenden Richtungskörpern zeigen, anders als auf eine der erwähnten Arten zu erklären. Zudem ließ sich häufig beobachten, daß die Richtungskörper, möglicherweise infolge eigenartiger Raumverhältnisse in einer Cyste, neben andern in einem »Intercellularraum« beisammen lagen; dort fanden sich aber auch Spindelrestkörper, und dorthin erstreckten sich die erwähnten Follikellappen (s. Fig. 41). Eine sichere Deutung der Einzelheiten in solch einem Gewirr von Zellelementen war also erschwert, auf keinen Fall konnte aber unter diesen Umständen das Ausstoßen eines 1. Richtungskörpers mit Sicherheit nachgewiesen werden.

Die Vorgänge am Kern deuten nicht ohne weiteres auf eine unterdrückte Teilung hin. Während bei *Apis* (Meves 1903 und 1907) eine regelrechte, vorläufige Spindel aufgestellt wird, wurde bei *Vespa* und *Camponotus* nur noch eine Halbspindel von Meves und Duesberg 1907 beschrieben. Bei *Osmia* findet vielleicht etwas hieran Anklingendes

insofern statt, als die Pol- und Kernfasern auf einer Seite zuerst auftreten (z. B. Fig. 15, 30). Bei *Xylocopa* sind diese Kernveränderungen offenbar ähnlich minimal wie bei *Osmia*. Granatas Zeichnungen sprechen sehr dafür, und sein Text schließt diese Auffassung nicht sicher aus. Im übrigen sei daran erinnert, daß schon Doncaster 1906, um hier von manchen Bedenken Mark und Copelands 1906 abzusehen, die ersten Knospen nicht überall fand und daraus schloß, sie würden nicht immer gebildet, daß er sie in der neuesten »Correction« 1909 bei *Nematus ribesii* eher vermutet als nachweist, und daß Meves' Deutung seiner Fig. 59 (1907) dem Verständnis Schwierigkeiten entgegensetzt.

Ursprünglich war ich geneigt, mehrere Bilder als Belege für das Vorkommen eines ersten kernlosen Richtungskörpers zu betrachten. Bei nochmaliger Prüfung konnte man sie zum Beweis für das Gegenteil verwenden. Der einzige Fall, der noch Zweifel übrig läßt, ist in Fig. 41 abgebildet. Das extracelluläre Bläschen auf dem einen Zellfortsatz (der unteren Zelle in der Figur) könnte am ehesten dafür sprechen, daß es sich um eine »erste« Knospe handelt. Es konnte aber auch eine etwas außergewöhnlich große Vorwölbung kurz vor der Anaphase der wirklich stattfindenden Mitose sein. Die »Knospe« ist wenigstens nicht deutlich getrennt und die Chromosomen schon zum Auseinanderrücken fertig aufgestellt. — Für die Chromosomenfrage ist das Vorkommen dieser kernlosen Knospe nicht von direkter Bedeutung.

Die kernhaltigen Knospen zeigen bald nach ihrer Ablösung Andeutungen von Degeneration, und sie sind noch einige Zeit zu sehen.

Daß die so losgetrennte kernhaltige Knospe dem ebenfalls kernhaltigen 2. Mevesschen Richtungskörper analog ist, geht aus dem Gesagten hervor. Daß weder vorher, noch nachher eine äquale Zell- und Kernteilung die, wie erwähnt, bei *Vespa* und *Camponotus* vorkommt, stattfindet, sondern daß dies die einzige Kernteilung der so deutlich abgegrenzten Reifezone darstellt, ist über allen Zweifel erhaben. Das Resultat ist überraschend: Die Osmienmännchen, deren Entstehung aus parthenogenetisch sich entwickelnden Eiern biologisch so gut wie sicher erwiesen ist, aus Eiern, die offenbar wie die Drohneneier und die anderer Verwandten 2 Richtungskörper ausgestoßen haben und nach alldem die reduzierte Chromosomenzahl besitzen, reduzieren bei der Samenreife diese Zahl noch einmal. Denn so sicher die Spermatogonien etwa 16 Chromosomen von bestimmter Größe und Gestalt aufweisen, so sicher erhalten die Spermatiden nur 8 Chromosomen von der gleichen Größe und Gestalt. Und dieses wurde nicht an einem Exemplar festgestellt, sondern an einer ganzen Reihe, von den verschiedensten Fundorten stammend.

5. Einige cytologische Einzelheiten.

In den männlichen Keimzellen der Mauerbiene treten eigenartige, starkfärbbare Körper auf. Es sind offenbar dieselben, die auch Granata kurz erwähnt und teilweise abbildet. Sie finden sich stets nur im Protoplasma und sind nicht auf allen Präparaten zu finden, aber bei den meisten, ohne Unterschied der Fixierungsart und der Färbungsmittel. Am meisten fällt auf ihre außerordentlich verschiedene Größe, Fig. 18, 32, und ihre meist genau kugelige Gestalt verbunden mit einem durchaus strukturlosen und homogenen Aussehen. Bei Hämatoxylinfärbung nach Delafield zeigen sie überdies nicht die dunkelblaue Farbe des Chromatins, sondern einen auffallenden, ziemlich hellen Kobaltton. Bei dieser Färbung kann man sie am leichtesten erkennen. Bei Eisenfärbung sind sie, namentlich im Stadium ihrer größten Gestalt, noch wohl zu sehen, wenn durch starkes Differenzieren das Chromatin schon ganz entfärbt ist. Allem nach handelt es sich also nicht um ein Kunstprodukt. Sie lassen sich zurückverfolgen bis in die Partien des Hodens mit rosettenartig angeordneten Keimzellen. Den größten Durchmesser, annähernd so groß wie der des Kerns, zeigen sie in der Zone des Hodens, wo sich die Rosetten auflösen. Hernach nehmen sie an Größe ab, bis sie nur noch als kleine Punkte erscheinen, so daß man sie dann bei Eisenhämatoxylinpräparaten leicht mit Centralkörpern (Fig. 9) verwechseln könnte. Ihre Größenabnahme fällt so zusammen mit der Periode des stärksten Wachstums der Spermatocyten. Vielleicht lassen sich daraus Rückschlüsse machen auf ihre Natur. Vielfach vermißt man sie auf den Bildern mit Spermatocytenteilungen. Ihre Zahl (Fig. 18) schwankt zwischen 1 und 3, auch ihre Lage ist außerordentlich wechselnd. In den noch nicht herangewachsenen Spermatocyten liegen sie in dem länglich ausgezogenen Plasmateil, manchmal sind sie im entgegengesetzten Zellteil eingezwängt in die schmale Plasmazone zwischen Kern und Zellmembran. Später, wenn sie wie gewöhnlich punktförmig klein geworden sind, liegen sie bald ganz am Kern, bald näher an der Zellgrenze.

Daß es sich nicht um Centralkörper handelt, geht daraus hervor, daß die fraglichen Körper, z. B. Fig. 18, 32, bei aufgestellten Spindeln die verschiedensten Lagen einnehmen können. Eine Verwechslung mit den Chromosomen ist nicht leicht möglich, da man bei näherer Untersuchung (Fig. 33) findet, daß er stets außerhalb der Spindel liegt. Manchmal freilich könnte man, aber nur beim ersten Zusehen, auf den Gedanken an ein zurückbleibendes Heterochromosom kommen. Oft aber zeigen die Körper noch ihre frühere ansehnliche Größe und bei Delafield-

scher Färbung ihre typische kobaltblaue Farbe, so daß eine Verwechslung unmöglich ist.

Ob bei den Spermatocytenteilungen eine gesetzmäßige Verteilung des oder der Körper stattfindet, ließ sich schon deswegen nicht feststellen, weil sie gerade bei diesen Zellstadien am wenigsten zu sehen sind. Später scheinen sie wieder an Größe oder Färbbarkeit, oder auch an beidem zuzunehmen, denn mehrfach wurden sie in den losgetrennten kernhaltigen Knospen wieder beobachtet, sehr oft auch wieder in den Spermatiden. Bei Präparaten, gefärbt mit Delafieldschem Hämatoxylin und nachgefärbt mit Pikrocarmin oder Bordeauxrot, sieht man in den Spermatiden 3 gefärbte Gebilde, verschieden groß und verschieden gefärbt, nahe beisammen liegen, den Kern mit Chromatingerüst, den blasigen Mitochondrialkörper (ähnlich wie ihn auch Granata abbildet) und den kobaltfarbigen kugeligen, vielfach ansehnlich großen Körper.

Ob es sich immer um genau denselben Körper handelt, konnte zwar nicht ganz lückenlos festgestellt werden, die färberischen Resultate und die Feststellung aller Übergänge in der Größe machen es aber wahrscheinlich. Daraus würde auch folgen, daß der Körper nicht ohne weiteres in Zusammenhang mit dem Mitochondriom gebracht werden kann. Wohl kann man an die »scheibenförmigen« Körper denken, die Duesberg bei *Vespa crabro* abbildet, z. B. (Meves und) Duesbergs Fig. 28, und deren mitochondriale Natur er dahingestellt sein läßt. Nicht ausgeschlossen erscheint mir, daß man es mit den Körpern zu tun hat, die nach Doncaster 1910 manchmal in eine der beiden Spermatiden einwandern.

Dem Körper deswegen, weil er vielleicht nicht in alle Spermatiden gelangt, geschlechtsbestimmenden Einfluß zuzuschreiben, dürfte schon nach dem Gesagten gewagt sein (s. auch u.). Später wird diese Frage noch gesondert behandelt werden müssen. Bei den Spermatocytenteilungen der Hymenopteren wurden wiederholt die extracellulären Bläschen beschrieben. Ihrer Bedeutung und ihrem näheren Ursprung nach sind sie gänzlich rätselhaft. Daß sie mit Centriolen in Verbindung stehen, ist einesteils sicher, aber es kommen vereinzelt weit mehr als 3 solcher Bläschen an einer Zelle vor. Ob ihre Lage eine gesetzmäßige Veränderung erleidet, wenn die Spermatocytenteilung herannaht, ließ sich nicht deutlich feststellen. Jedenfalls findet man sie, wenn die Spindel aufgestellt ist, nur an den Spindelpolen (oft in Zweizahl), während sie vorher auf der Peripherie zerstreut liegen (vielfach in Dreizahl; vgl. Granata 1908). Vor der Teilung sind sie gestielt. Die Stiele waren vereinzelt von der Größe eines Knospendurchmessers. Die Bläschengestalt ist nicht immer regelmäßig, die Größe recht verschieden. Bei Stadien mit eben aufgetretener

Polstrahlung sitzen sie vielfach direkt der Zellmembran auf, wobei eine Verbindung zwischen Centriol, das zu dieser Zeit nur ausnahmsweise an der Zellperipherie liegt, und den Bläschen nachgewiesen werden konnte. Bei spätern Stadien scheint diese Verbindung sich zu verkürzen, denn obschon der Spindelpol der Zellperipherie sich nähert, sitzen die Bläschen in trichterartigen Vertiefungen, gerade als ob sie gewaltsam dem Zellinnern zu gezogen worden wären (vgl. Meves, Duesberg 1908).

Bei der Umwandlung der Spermatiden in Spermatozoen scheint auch hier ein Teil des unverhältnismäßig reichlichen Protoplasmas abgestoßen zu werden. Dabei wurde von mir auch ein reichliches Auftreten ähnlicher Bläschen vereinzelt festgestellt. Es wird sich aber hier um eine andre Erscheinung handeln, denn gegen Ende der Spermatocytenteilungen sind die oben genannten Bläschen schon wieder am Verschwinden; man findet wenigstens meist nur noch solche von besonders kleiner Gestalt.

Für nähere Untersuchungen über die Natur der Spindel- und Polfasern bei Mitosen wären vielleicht die Spermatocytenteilungen von Hymenopteren ein günstiges Objekt. So deutlich wie bei *Apis mellifica* sind die Strahlungen bei *Osmia cornuta* nicht, aber bei Sublimat- oder Osmiumfixierungen und Eisenfärbung treten sie mit bemerkenswerter Schärfe hervor, so daß sie weniger als Kraftlinien, sondern wie eigentliche Organellen der Zellen erscheinen. Die optischen Durchschnitte speziell der Polfasern haben sogar Ähnlichkeit mit denen der sich ausbildenden Achsenfäden der Spermatozoen. In auffallendem Gegensatz dazu weisen die Spermatogonienteilungsbilder und die der somatischen Mitosen eine nur minimale Polstrahlung auf. Bei der Kernspindel bot sich öfters das Bild von deutlich verzweigten Fasern. Auch auf verhältnismäßig späten Stadien der Teilung scheinen die Centralspindelfasern (»Kernfasern«) die Centriolen nicht zu erreichen. Solche Körner in der Nähe der Hauptcentriolen, wie sie bei Meves und Duesberg 1908 beschrieben sind, ließen sich nicht finden, denn was ihnen hier zuweilen ähnlich sah, erwies sich als optischer Querschnitt durch ein Polstrahlenbündel.

Die Mitochondrien traten verschiedentlich deutlich hervor; sie wurden aber nicht in den Bereich der Untersuchungen einbezogen.

6. Die somatische Chromosomenzahl.

Die Apiden scheinen sich in cytologischer Hinsicht auch darin besonders auszuzeichnen, daß die Chromosomenzahl des Somas beträchtlich höher ist, als die der Keimbahn. Petrunkewitsch nimmt bei Weibchen und Männchen von *Apis mellifica* 16 als Normalzahl der Keimbahn an, in den Blastodermzellen des befruchteten Eies findet er das Vierfache

davon: 64. Er hält darum die punktförmigen Chromosomen der *Apis*-Eier für vierwertig. Meves bestätigt die hohe somatische Chromosomenzahl und zwar auch für die Drohnen. Er zeichnet und beschreibt somatische Mitosen aus den Follikelzellen des Hodens und er findet 60—70 punktförmige Chromosomen (s. Meves Fig. 5, 6). Granata kommt zu ähnlichen Ergebnissen bei *Xylocopa*. Die Chromosomen, die er zeichnet, haben wie die der Keimbahn eine offenbar der *Xylocopa* eigene, voluminösere, mehr balkenförmige Gestalt. Auf Granatas Fig. 2 lassen sich ebenfalls gegen 70 zählen. Bei *Osmia cornuta* fanden sich, zumal auf gewissen, nicht zu frühen Stadien (s. o. S. 268), die somatischen Mitosen nicht selten im Hüllepithel und in den Follikelzellen des Hodeninnern in peripherer, und zwar tangentialer Lage zu den Cystenrosetten. Centriolen und kräftige Spindelfasern sind wohl zu erkennen, die Polstrahlung ist auch hier minimal. Das Chromatin ist von auffallendem Reichtum, in den meisten Fällen freilich so kompakt, daß eine Zählung oder eine Schätzung unmöglich war. Fig. 47 (Flemming-Hämatein), leider angeschnitten, läßt soviel klar erkennen, daß auch hier wiederum die Chromosomengestalt und -größe die gleiche ist, wie in der Keimbahn. Es kann sich dann wohl nur um ein höheres Vielfaches von 16 handeln. Auch hier ist also der Parallelismus der Chromosomenverhältnisse bei *Apis*, *Xylocopa* und *Osmia* festzustellen.

IV. Ergebnisse.

Bei der Samenreifung von *Osmia cornuta* fanden wir mit Sicherheit nur eine Kernteilung, und zwar eine solche, welche eine Herabsetzung der Chromosomenzahl von 16 auf 8 verursacht, also offenbar eine Reduktionsteilung ist; die Osmienmännchen aber entwickeln sich, wie biologisch mit genügender Sicherheit nachgewiesen sein dürfte, parthenogenetisch, also offenbar mit reduzierter Chromosomenzahl. Das Resultat erscheint um so befremdender, als man nach den in der Einleitung erwähnten Untersuchungen zahlreicher Autoren bei verwandten Objekten das Gegenteil hiervon erwarten mußte.

Man wird mit Recht eine Darlegung erwarten, wie diese Befunde mit den eben erwähnten Untersuchungen, dann auch mit dem bisher über die Eireifung und Befruchtung bei Hymenopteren Bekannten, namentlich aber mit den Resultaten des biologischen Teils dieser Arbeit in Einklang zu bringen sind.

Denn wie in den orientierenden Worten der Einleitung auseinandergesetzt ist, wurde bisher von der Chromosomenzahl auf die Geschlechts-

bestimmung und umgekehrt folgendermaßen geschlossen: Die Hymenopterenmännchen unterdrücken bei der Samenreife die Reduktionsteilung, also muß ihre Chromosomenzahl schon reduziert sein; zur Erklärung liegt es am nächsten anzunehmen, daß die Chromosomenzahl des reifen Eies durch das Chromosomensortiment des sonst hinzutretenden Spermas nicht ergänzt wird, mit andern Worten, daß die Männchen sich aus unbefruchteten Eiern entwickeln. Gerade das bisher stets angenommene Ausfallen der Reduktion erschien als Beweis für die Dzierzonsche Theorie. Hier bei *Osmia*, wo nach den biologischen Untersuchungen die Dzierzonsche Theorie gilt, soll umgekehrt diese Reduktion stattfinden? Wie läßt sich das zusammenreimen?

1. Die Chromosomen bei den Spermatocytenteilungen verwandter Hymenopteren.

a) Apis mellifica.

Die Untersuchung von Meves 1907 trägt zweifellos den Stempel der Sorgfalt, und man wird sich nur schwer entschließen können, an seinen Angaben zu zweifeln. Doch ist bemerkenswert, daß Meves in seinen 3 aufeinander folgenden Arbeiten (1903 a und b, 1907) seine theoretische Anschauung nicht unwesentlich veränderte. Meves zählte nämlich 1904 zwar wohl 16 Chromosomen, daß jedoch je 16 in der wirklich stattfindenden Anaphase auseinanderrücken, sagt er nicht. Nach dem ganzen Zusammenhang hält er aber die wirklich stattfindende Kernteilung für eine Äquations-, die unterdrückte für eine Reduktionsteilung. Der Ausfall der letzteren muß nach ihm »befremden«: »Eine Erklärung dafür im Sinne der Reduktionslehre läßt sich auf Grund der beobachteten Tatsachen nicht geben.«

Kurze Zeit hernach machte, was aber in der Folge ganz unbeachtet blieb, v. Buttel-Reepen (1904) auf die Widersprüche aufmerksam zwischen den Befunden von Meves und Petrunkewitsch; er ist »geneigt anzunehmen, daß vielleicht bei den Mevesschen Befunden anormale Verhältnisse vorliegen dürften.«

Ähnlich und offenbar unabhängig davon, schließt Giglio-Tos (1906); auch er erhebt einige Bedenken bezüglich der Befunde von Meves und ihrer Deutung. Desgleichen bestehen zwischen Meves und den Autoren Mark und Copeland 1906 kleine Meinungsverschiedenheiten über die Deutung der Chromosomen und ihre Zahl.

Meves baute dann später (1907) die Ideen von Giglio-Tos über die Beziehung von Chromosomenzahl und Herkunft der Drohnen näher aus und deutet nunmehr die »befremdliche« Unterdrückung der I. Kernteilung

in der bekannten Weise: Die Normalzahl der Chromosomen in der Keimbahn der Honigbiene ist 32. Die Drohnen entstehen aus unbefruchteten, normal gereiften Eiern; ihre Chromosomenzahl 16 ist daher die reduzierte. Daraus sei zu schließen: Die eine Kernteilung wird deswegen unterdrückt, weil eine zweite Reduktion der Chromosomenzahl nicht mehr stattfinden darf. Die allein noch bleibende Kernteilung sei daher »wahrscheinlich eine Äquationsteilung.« Es besteht kein Zweifel, daß MEVES glaubt, je 16 Chromosomen rücken bei der wirklichen Anaphase nach beiden Seiten. (S. z. B. seine Erwiderung auf DONCASTERS Vorschlag, von 8 Doppelchromosomen zu reden.) Auf seinen 139 Figuren sind aber nur ein einziges Mal (MEVES, Fig. 78) 15 Chromosomen zu zählen. Aber die Spindel, an deren einem Ende diese 15 Chromosomen zu sehen sind, ist schon nicht mehr deutlich. Es handelt sich also um ein spätes, wenig geeignetes Stadium. Im andern Ende der Spindel sind auch im günstigsten Fall nur 13 Chromosomen zu zählen. Auf seiner Tafel, die er eigens dem Studium der Chromosomen widmet, sind die entscheidenden Figuren (Fig. 76 und 77) zwei Äquatorialplatten; die letztere zeigt, nicht sehr deutlich, aber einigermaßen gepaart, 16 punktförmige Chromosomen, die erstere deutlich 8 Paare von Chromosomen, von denen jedes einzelne das gleiche Volumen hat wie ein Chromosom in der ersterwähnten Figur. Alle andern Spindeln weisen eher die Zahlen 8 + 8 als 16 + 16 auf (man vergleiche seine Fig. 50 usw.). Daß die Mehrzahl seiner Figuren mit diesen Stadien angeschnitten oder nur im optischen Durchschnitt gezeichnet sind, kann wohl nicht angenommen werden. Angaben hierüber wären freilich sehr erwünscht gewesen.

Wie erwähnt habe auch ich mir Präparate vom Apishoden angefertigt, genau nach MEVESscher Vorschrift. Nachdem inzwischen NACHTSHEIM im Juni 1912 in seiner vorläufigen Mitteilung auch Untersuchungen über die Spermatogenese angekündigt hat, habe ich von einer eingehenderen Nachprüfung der Angaben über *Apis* abgesehen. Meine bisherigen Beobachtungen lassen aber nur die Deutung zu, daß in der Anaphase nur 8 Chromosomen in jeder Tochterplatte vorhanden sind.

Sehr nachdenklich müssen uns jedoch die Angaben DONCASTERS machen. Dieser bestätigte die Unterdrückung der ersten Teilung im allgemeinen, gab aber an, daß die zweite eine Reduktion der Chromosomenzahl von 16 auf 8 herbeiführe. Später, 1907, nimmt er diese Behauptung allerdings zurück, indem er seine Figuren anders deutet. Die Hilfserklärung, die er dazu benötigt, und auf die ich hier nicht näher eingehen will, ist aber nach allen Beobachtungen unmöglich (s. auch u. S. 295). Der Grund, warum er widerruft, ist auch hinfällig, denn die Angaben von PETRUN-

KEWITSCH, die ihm falsch erscheinen, und die er nicht (durch Annahme der Zahl 8 in den Spermatiden) stützen will, haben sich, wie NACHTSHEIM 1912 zeigte, gerade als richtig erwiesen. Recht bemerkenswert ist, daß die entscheidende Fig. 2 von DONCASTER 1906a genau mit der entscheidenden Fig. 76 von MEVES 1907 übereinstimmt. DONCASTER 1906a schließt aus ihr auf eine Reduktionsteilung, MEVES 1907 benutzt sie in seiner Beweisführung zugunsten der Äquationsteilung.

Daß MARK und COPELAND 1906 Bedenken hatten gegenüber der MEVESschen Art, die Chromosomen zu zählen, ist erwähnt. Ihre Figuren besagen über die Chromosomenzahl wenig, sprechen aber auf keinen Fall für die Zahlen 16 in jeder Spermatide (z. B. ihre Fig. 9, 11).

b) Vespa.

MARK und COPELAND 1907 beschäftigen sich bei *Vespa maculata* L. nicht genauer mit der Chromatingeschichte. Über die Chromosomenzahl bemerken sie denn auch lediglich: »We have not as yet succeeded in determining the exact number of the chromosomes but believe that it is not less than sixteen.« Aus ihren Figuren ist höchstens zu ersehen, daß bei *Vespa* kurz vor und nach der Teilung die Chromosomengestalt die gleiche ist wie bei *Osmia*, im übrigen ist aus ihnen wenig Aufklärung zu holen, sicher aber beweisen sie nichts für das Vorhandensein einer Äquationsteilung.

Für *Vespa crabro* L. kommen MEVES und DUESBERG wie bei *Apis* zu dem Ergebnis: »Durch die Unterdrückung der Kernteilung bei der ersten Spermatocytenteilung wird verhindert, daß eine nochmalige Reduktion der Chromosomen masse stattfindet. Ebenso unterbleibt eine nochmalige Reduktion der Chromosomen zahl; indem in den Spermatocyten wieder dieselbe Anzahl von Chromosomen auftritt wie in den Spermatogonien.« »Ganz die gleichen Verhältnisse« finden sie auch für die Ameisen (*Camponotus herculeanus*). Sie schließen auf arrhenotoke Parthenogenese bei Wespen und Ameisen. Über die Zahl der Chromosomen haben sie bei *Vespa crabro* »Sicheres nicht feststellen können; jedenfalls ist sie höher als in den Spermatocyten der Honigbiene, wo sie 16 beträgt.« Unter den Figuren ist keine Polansicht von Äquatorialplatten. Die Tochtergruppen sprechen auf jeden Fall nicht für eine größere Zahl als 16, vielmehr Fig. 34 und 35, von DUESBERG gezeichnet, eher für eine Zahl nahe an 8.

c) Camponotus herculeanus.

An der Hand von MEVESschen Präparaten wurden die Spermatocytenteilungen von *Camponotus herculeanus* von LAMS des näheren untersucht. Die von ihm (Fig. 3, 23) abgebildeten Chromatinstränge des »Spirem«-

stadiums, wie er sich ausdrückt, zeigen keine Längsteilung und sind ziemlich deutlich abgegrenzt. Auf späteren Stadien findet eine Kondensierung des Chromatins an bestimmten Stellen statt. »Les chromosomes apparaissent sous la forme de petits grumeaux arrondis, intensément colorables; chacun d'eux est divisé en deux amas chromatiques secondaires qui restent le plus souvent accolés et sont disséminés dans toute l'aire nucléaire (fig. 4 et 24)«. Über Chromosomenzahlen finden sich keine Angaben, ebensowenig darüber, ob die 2. Teilung wirklich eine Äquationsteilung ist. Aus den Präparaten hätte man aber, nach den Abbildungen zu schließen, doch wohl einiges hierüber ermitteln können. Die endgültige Gestalt der Chromosomen ist klar, sie sind nämlich kugelförmig von relativ ansehnlicher Größe; bei den 2 »Äquatorialplatten« (Lams, Fig. 25 und 26) sind ziemlich gut 16 zu zählen. Fig. 25 hat freilich so deutliche Spindelfasern nach beiden Seiten, daß man sie eher für das Bild einer beginnenden Anaphase halten möchte, wobei dann in jeder Tochterplatte nur 8 Chromosomen zu zählen wären. Auf die gleichen Zahlen weisen offenbar seine Fig. 13 ff. Daß man aber nicht etwa 8 für die männliche Chromosomenzahl halten darf, das besagt deutlich genug schon Lams' Fig. 26. Seine Fig. 23 ist allem nach anders zu erklären; es handelt sich meines Erachtens nicht um je ein gespaltenes Einzelchromosom, sondern um zwei sich schon aneinander legende Einzelchromosomen, denn eine solche paarweise Gruppierung kommt vor (Fig. 12), und in Fig. 23 sind nicht etwa 16 gespaltene vorhanden, wie man nach Lams' Deutung annehmen müßte, sondern etwa 8 zu zählen.

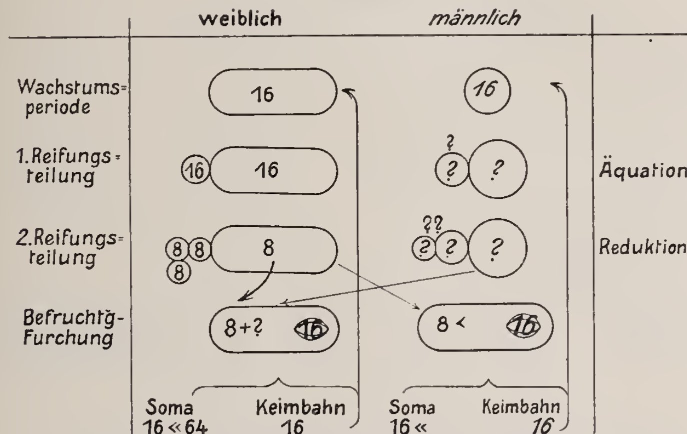
d) Xylocopa violacea.

Granata (1909) konnte, wie er ausdrücklich zugesteht, bei seinem knappen Material die hier in Frage stehende Kernteilung nicht näher studieren. Er gibt keine Polansicht von einer Äquatorialplatte; die Seitenansicht entnimmt er Sublimatpräparaten, die sich, wie wir gesehen haben, gerade für dieses Stadium weniger eignen. Er behauptet, aber ohne einen Beweis zu liefern, es finde eine Längsteilung, also eine typische Äquationsteilung statt. Dieser Schluß ist fast unmöglich gemacht durch seine Fig. 35, denn eine Tochterplatte enthält dort schwerlich 16 Chromosomen. Die Zahl 16 gibt er nie in der Beschreibung an, sondern fügt sie nur in der kurzen Zusammenfassung am Schlusse in Parenthese bei. Seine Schlüsse lauten wie die von Meves, Duesberg usw. Die Reduktion bei der Samenreifung ist unterdrückt, also hat das *Xylocopa*-Männchen die reduzierte Chromosomenzahl. Dies letztere ist so zu erklären, daß die Männchen aus normal gereiften, aber unbefruchteten Eiern entstanden sind.

2. Eireifung und Befruchtung bei Osmia.

Die ganze Chromosomengeschichte von *Osmia cornuta* ist durch meine Untersuchungen leider noch nicht ganz aufgeklärt, denn Eireifung sowohl wie Befruchtung und Beginn der Furchung sind hier bei *Osmia* wie bei den andern solitären Bienen cytologisch noch unerforscht. Ihre Untersuchung wird auf erhebliche, wenn auch nicht unüberwindliche Schwierigkeiten stoßen. Manches vom Folgenden kann also nur vermutungsweise ausgesprochen werden. Jedoch dürften nach den früher angeführten biologischen Resultaten kaum ernstliche Bedenken bestehen, die

Textfig. E.



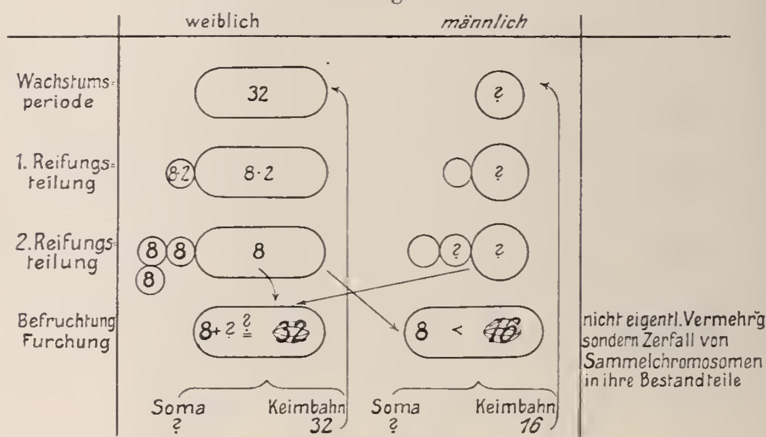
Apis mellifica. Chromosomenverhältnisse nach Petrunkewitsch (1901, 1902).

gleichen Verhältnisse wie bei *Apis mellifica* vorauszusetzen, zumal da diese Verhältnisse — es handelt sich vor allem um das Ausstoßen von 2 Richtungskörpern bei parthenogenetischen Eiern — nicht nur bei den Akuleaten nachgewiesen wurden (z. B. Silvestri 1906). Bei *Apis mellifica* aber ist man in der glücklichen Lage, zwei Untersuchungen zu besitzen, die von Petrunkewitsch 1901 und Nachtsheim 1912. Fanden auch Petrunkewitschs Angaben über die Entstehung der männlichen Keimzellen aus dem sogenannten Richtungskopulationskern nicht ihre Bestätigung, so zeigte es sich doch, daß alle näher beschriebenen Chromosomenverhältnisse, so merkwürdig sie auf den ersten Blick erschienen, vollständig richtig beobachtet waren.

Petrunkewitsch glaubt, daß im Keimbläschen des (ungereiften) Eies 16 (höchst wahrscheinlich quadrivalente) Chromosomen vorhanden sind. Die erste Richtungsteilung ist nach ihm eine Äquations-, die zweite eine

Reduktionsteilung. Es liegen zum Schluß im reifen Ei 4 Gruppen von je 8 Chromosomen, der weibliche Vorkern, der 2. »Richtungskörper« und die 2 Teilstücke des ersten. (Die Richtungskörper werden nicht abgeschnürt.) Dieser Vorgang ist gleich bei allen Eiern, mögen sie befruchtet werden oder nicht. In das Keimbläschen gehen also auf alle Fälle 8 Chromosomen ein. Wenn das Drohnenei sich zu furchen beginnt, dann treten in der 1. Furchungsspindel 16 Chromosomen auf, ohne daß ein männliches Chromosomensortiment hinzugekommen ist. »Die Herstellung der Chromosomenzahl im weiblichen Pronucleus der Drohneneier geschieht vermutlich durch Längsspaltung der Chromosomen mit einem Ausbleiben der

Textfig. F.



Apis mellifica. Chromosomenverhältnisse nach Nachtsheim (1912).

entsprechenden Teilung in 2 Tochterkerne«. Diese »theoretisch vorauszusetzende Verdopplung der Chromosomenzahl« hat Petrunkewitsch in seiner Fig. 16 abgebildet, »soweit es eben möglich war«. Im befruchteten Ei findet »durch die Kopulation die Verdopplung der Chromosomenzahl statt, wie eine größere Zahl von Bildern, in welchen die bereits verschmolzenen Kerne die Zahl von 16 Chromosomen zeigen, beweisen.« Eine weitere Beschreibung des Kopulationsvorgangs im Bienenei »hält er nicht für nötig, da dieser Prozeß hier nichts besonders Eigentümliches darbietet und gerade von statten geht, wie bei allen andern bis jetzt beschriebenen Insekteneiern.«

Nachtsheim 1912 bestätigt, hauptsächlich durch die Widersprüche zwischen Meves und Petrunkewitsch zur Nachuntersuchung angeregt, die Gleichheit des Eireifungsvorgangs bei »männlichen« und »weiblichen« Eiern, sowie auch die Verdopplung der Chromosomenzahl im unbefruch-

teten Ei nach der zweiten Reifungsteilung und vor der ersten Furchungsteilung. Doch sind seine Ergebnisse in andern Punkten verschieden und

Textfig. G.

	weiblich	männlich
Wachstums=periode	8	?
Reifungs=teilungen	8 8 8 8	

Nematus ribesii. Doncaster (1906). Bei *Nematus* entwickeln sich aus unbefruchteten Eiern Männchen (bei andern Blattwespen z. B. *Poecilosoma luteolum* Weibchen).

	weiblich entweder	weiblich oder[1])	männlich
Wachstums-periode	8	8	8
Reifungs=teilungen	8 8 8 8	4 4 4 4	? 4 4

Doncaster (1907).

[1]) Wahrscheinlich allein befruchtungsfähig, aber auch ohne Befruchtung entwicklungsfähig. Das Soma zählt mehr Chromosomen als die Keimbahn.

	weiblich	männlich
Wachstums=periode	unsicher ?	16
Reifungs=teilungen	? ? ? ? „require revision"	0 8 8

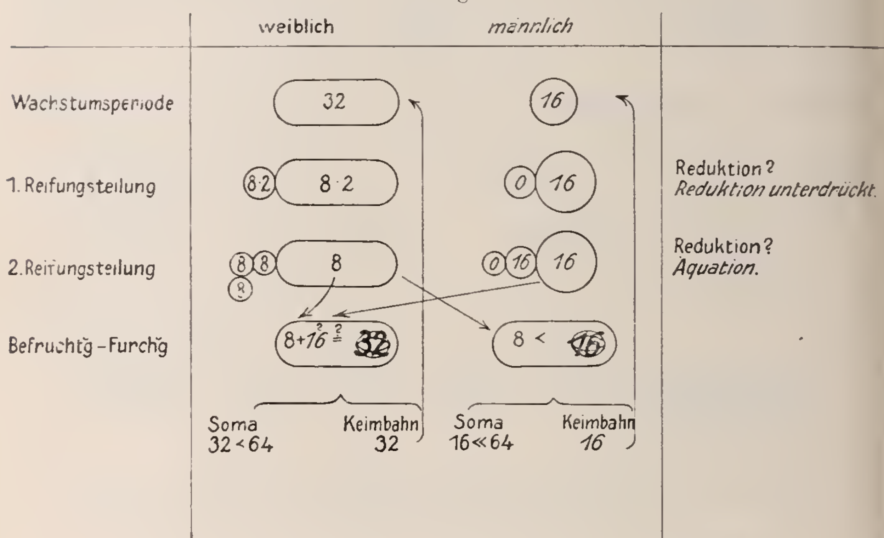
Doncaster (1909).

nähern sich denen von Meves. In der Furchungsspindel des sich entwickelnden befruchteten Eies findet er im Gegensatz zur Annahme Petrunkewitschs und in Übereinstimmung mit einer Vermutung von Meves nicht etwa 16, sondern 32 Chromosomen, und er schließt offenbar

mit Recht, daß man in den 32 Chromosomen der Furchungsspindeln der Arbeiterinnen und Königinnen die Normalzahl vor sich habe.

Die Widersprüche von MEVES und PETRUNKEWITSCH will NACHTSHEIM mit der Annahme lösen, daß die in den ersten Furchungsspindeln festzustellende Vermehrung der Chromosomenzahl auf einem Zerfall von »Sammelchromosomen« in ihre »einwertigen« Bestandteile beruht. Zur Stütze dieser Erklärung beruft er sich auf die DONCASTERschen Mitteilungen über die Samenreife von *Apis* 1906 und 1907, die ihm eine auch bei der

Textfig. H.



Apis mellifica. Chromosomencyklus (?) nach PETRUNKEWITSCH, NACHTSHEIM-MEVES.

Spermatogenese stattfindende »Bindung von Chromosomen« wahrscheinlich erscheinen lassen.

Aus verschiedenen Gründen sei noch das Resultat angefügt, welches DONCASTER bei *Nematus ribesii* gefunden und in zwei nachfolgenden Veröffentlichungen korrigiert und erweitert hat: (s. Textfig. G. S. 293).

Er schließt in seiner letzten »Correction«: »Das Verhalten der Chromosomen bei *Nematus ribesii* ist so schwer zu verfolgen, daß möglicherweise die wahre Erklärung (true interpretation) erst gefunden wird, wenn man eine nahverwandte Art findet, bei der sie (die Chromosomen) klarer zu unterscheiden sind.«

Als letztes Resultat hätte demnach DONCASTER festgestellt: Wie bei *Osmia cornuta* findet bei der Samenreifung von *Nematus ribesii* nur eine Mitose statt und diese bewirkt eine Herabsetzung der Zahl 16 auf 8.

Wenn man in das obige Schema mit PETRUNKEWITSCH-NACHTSHEIMS Ergebnissen die MEVESschen einträgt, dann dürfte das noch Unharmonische daran deutlich zutage treten (s. Textfig. H S. 294).

3. Das Reduktionsproblem.

Bevor ich die im vorstehenden ausgeführten Ergebnisse über die Ei- und Samenreife bei der Honigbiene mit meinen Resultaten an *Osmia* vergleiche, soll zunächst noch die wichtige Frage erörtert werden: Ist die beschriebene Herabsetzung der Chromosomenzahl von 16 auf 8 in der Spermatocytenteilung bei *Osmia* eine wirkliche Reduktion?

Zunächst sei noch hervorgehoben, daß zwar die Chromatinverhältnisse bei Hymenopteren kompliziert sind, und die Chromosomen in verschiedener Weise schon gedeutet wurden, daß man aber nicht in DEHORNES (1910) gekünstelter Art, die Chromosomen zu zählen, einen rettenden Ausweg suchen darf, denn die cytologisch-morphologische Grundlage der

Textfig. J.



DEHORNEschen Theorie wurde durch MUCKERMANN (1912) als unhaltbar nachgewiesen.

Nach den Befunden scheint eine Äquationsteilung ausgeschlossen, denn die 16 stäbchenförmigen Chromosomen ziehen sich, und zwar jedes für sich, zu kugeligen Gebilden zusammen, und bei *Osmia* scheint mir deswegen die Gefahr einer Verwechslung von Äquations- und Reduktionsteilung recht gering zu sein.

Die einzige Möglichkeit, die Annahme einer Äquationsteilung zu retten, wäre die: Die Stränge ziehen sich zu biskuitförmigen Chromosomen zusammen. Je zwei solcher legen sich parallel zusammen, und während die geknöpften Enden verschmelzen, wird das dünne Mittelstück eines jeden Biskuits durchschnürt (s. Textfig. J).

Eine biskuitförmige Gestalt wird sich notwendig manchmal finden müssen, wenn Schleifen, die bisweilen an den Enden verdickt sind, sich verkürzen. Aber weder ein regelmäßiges Durchschnüren der Stränge, noch weniger das zeitweilige Auftreten etwa von 32 Kugeln (= die Enden der 16 biskuitförmigen Chromosomen) ist im entferntesten zu beobachten. Im Gegenteil zeigen manche der FLEMMING- und HERMANN-Bilder die

zusammengezogenen knotenförmig verdickten Chromosomen hintereinander gereiht, nach Art einer Perlenschnur. Das könnte fast die Vermutung nahelegen, daß die 16 schleifenförmigen Chromosomen hintereinander zu einer Art Spirem zusammengeschlossen, sich zu Knoten zusammenziehen, bevor das »Spirem« in seine 16 Teilstücke zerfallen ist. Auf alle Fälle sprechen solche Bilder ganz und gar dagegen, daß die 16 Stäbchen sich immer zuerst parallel nebeneinander legen und sich dann erst in der genannten komplizierten Weise zu Doppelkugeln zusammenziehen. Tatsächlich findet man aber die zusammengezogenen Chromosomen meist lange Zeit für sich allein in der Kugelform, ehe sie sich zu der beschriebenen Art von Dyaden zusammenlegen.

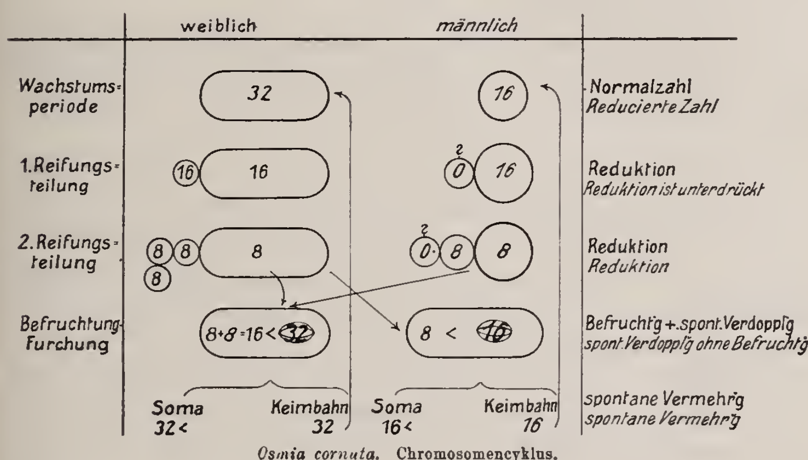
Wenn wir es aber bei *Osmia cornuta* mit einer wahren Reduktionsteilung zu tun haben, dann erscheint es fraglich, ob man im Sinne Nachtsheims eine Bindung von Chromosomen annehmen und in dieser Weise die Widersprüche zwischen Meves und Petrunkewitsch lösen darf. Diese Annahme einer »Bindung« fände zwar in dem von Meves bei *Apis* angegebenen Längsspalt, den auch ich bei vereinzelten Stadien von *Apis mellifica* glaube beobachtet zu haben, der stäbchenförmigen Chromosomen eine Stütze, würde aber, abgesehen davon, daß die Chromosomenverhältnisse der Wachstumszone (wahrscheinlich auch Spermatogonienzone) und der Spermatocytenteilung bei *Osmia* widersprechen, die Schwierigkeiten nur teilweise beheben. Nachtsheim nennt die 16 Chromosomen der männlichen und die 32 Chromosomen der weiblichen Furchungsspindeln »einwertig«, indem er annimmt, daß sicher die 8 Chromosomen, die in den weiblichen Vorkern eintreten, Doppelchromosomen sind. Die Vermehrung z. B. von 8 auf 16 festzustellen in der Furchungsspindel des Drohneneies, ist nach ihm dann die Lösung dieser Bindung. Es darf aber nicht übersehen werden, daß jeweils im Soma diese 16 Chromosomen des Männchens in 64 (Meves 1907, Granata 1909) und die 32 Chromosomen des Weibchens höchstwahrscheinlich auch in 64 Chromosomen (Petrunkewitsch 1902, Fig. 17) übergehen, also sich noch einmal vermehren. Wenn man alle Vermehrung der Chromosomenzahl prinzipiell durch Bindung und Trennung von Einzelchromosomen erklären wollte, so müßte man voraussetzen, daß die von Nachtsheim »einwertig« genannten 16 Chromosomen des Männchens und 32 Chromosomen des Weibchens mehrwertig sind.

Denn der Zerfall der 16 Chromosomen des Männchens bzw. der 32 Chromosomen des Weibchens in 64 Chromosomen würde voraussetzen, daß alle kugelförmigen Chromosomen 8-wertig sind, also aus 8 Chromatineinheiten bestehen, die miteinander verbunden auftreten. Keinerlei Beobachtung aber spricht bei *Osmia cornuta* hierfür. Überdies wären die

endgültigen Chromosomen des Somas beim Männchen und Weibchen verschieden aufgebaut. Denn die 16 achtwertigen Chromosomen des Weibchens werden zunächst in der Keimbahn in 32 vierwertige, hernach im Soma offenbar in 64 zweiwertige zerlegt, die achtwertigen Chromosomen des Männchens hingegen zunächst in der Keimbahn in 16 vierwertige, hernach in 64 einwertige.

Daher werden die Verhältnisse bei *Osmia* eher die andre Deutung nahelegen, daß nämlich hier eine »spontane« Vermehrung der Chromosomen vorliegt, eine Annahme, die durch mannigfache Beobachtungen bei Hymenopteren (Henking 1892, Schleip 1908, Doncaster 1910a) gestützt wird.

Textfig. K.



Osmia cornuta. Chromosomencyklus.

Ich möchte also eher annehmen, daß die 8 Chromosomen des Männchens und die 16 Chromosomen des Weibchens, die in die Furchungskerne eintreten, sich aus nicht näher bekannten Ursachen vermehren, bis in der weiblichen Keimbahn 32, in der männlichen 16 und im Soma bei beiden eine höhere Zahl, wahrscheinlich 64 Chromosomen vorhanden sind.

Daß ausnahmsweise einmal eine Verdopplung, eventuell auch eine Andeutung davon verfrüht sich vorfinden kann, soll nicht geleugnet sein; vielleicht ist auch der von Meves beschriebene Längsspalt, s. o. S. 274 u. 296, so zu deuten.

Daß ein gewisses unkontrollierbares Schwanken der Chromosomenzahl zwischen den verschiedenen Vielfachen einer bestimmten Grundzahl bei Hymenopteren (z. B. Ameisen, vielleicht auch Blattwespen) vorkommt, eine Frage, die für sich einer näheren Untersuchung wert wäre, scheint in manchen Fällen eher für eine spontane Vermehrung zu sprechen.

Man kann die Chromosomengeschichte für *Osmia cornuta* folgendermaßen zusammenfassen (s. Textfig. K):

Die Spermatogonien enthalten 16 einwertige Chromosomen. Es findet nur eine Kernteilung bei der Samenreifung statt, und diese eine ist eine Reduktionsteilung. Demgemäß erhalten die Spermatiden 8 einwertige Chromosomen. Da bei der Eireifung nach Analogie mit *Apis* die Chromosomenzahl 32 durch 2 Teilungen auf 8 herabgesetzt wird, so vereinigen sich bei der Befruchtung 8 männliche und 8 weibliche Chromosomen. Ei und Sperma liefern also die gleiche Zahl der Chromosomen. Wenn das befruchtete Ei sich furcht, haben sich diese 16 Chromosomen zu 32 vermehrt. 32 ist die Normalzahl der Keimbahn der aus befruchteten Eiern hervorgehenden Weibchen.

Im unbefruchteten Ei, das 8 weibliche einwertige Chromosomen enthält, findet auch vor der Furchung die Verdopplung statt, so daß 16 die Normalzahl der aus unbefruchteten Eiern sich entwickelnden Männchen ist.

In beiden Fällen findet dann in den Somazellen, aber nur in diesen, noch einmal eine Vermehrung der Chromosomen statt. Diese spielt im Chromosomencyklus der Art keine Rolle mehr, da die Somazellen stets ausgeschaltet werden. Während sonst die Chromosomenzahl nur durch die Befruchtung verdoppelt wird, tritt hier beim Weibchen eine Erhöhung der Zahl erstens durch Befruchtung, zweitens durch Vermehrung ein; beim Männchen eine Erhöhung der Zahl durch Vermehrung allein.

Als Regulativ für die einfache Erhöhung der Chromosomenzahl beim Männchen findet (obgleich die Befruchtung ausfällt) eine einfache Reduktion bei der Samenreife statt; als Regulativ für die zweimalige Erhöhung der Chromosomenzahl beim Weibchen (Befruchtung + spontane Vermehrung) ist eine zweimalige Reduktion bei der Eireifung nötig.

Die einmalige Reduktion bei der Samenreife wurde oben beschrieben. Die zweimalige Reduktion bei der Eireifung ist eine Hypothese, die aber mit den bis jetzt gegebenen Bildern der Reifungsteilungen bei *Apis*[1]) wohl verträglich ist. Aus dem oben beigefügten Schema geht klar hervor, daß in der Vorgeschichte des Chromatins der männlichen wie der weiblichen Keimzellen jener Parallelismus gewahrt wird, den man nach den bisherigen Angaben vermissen mußte. Wenn man eine doppelte Reduktion bei der Eireifung annimmt, dann ist die Unterdrückung der einen Teilung bei der Samenreifung wohl verständlich, denn wenn der Reduk-

[1]) Auch mit denen von *Lasius* (Henking 1892).

tionsvorgang gleich wäre wie beim Ei, müßte die Chromosomenzahl allmählich abnehmen.

Die DZIERZONsche Geschlechtsbestimmung drückt sich dann auch bei Annahme der oben entwickelten Hypothese in dem Verhalten des Chromatins aus, und man kann beinahe genau wie bisher bei *Apis*, *Vespa*, *Bombus* usw. umgekehrt von der Unterdrückung der ersten Kernteilung auf die Gültigkeit der DZIERZONschen Theorie schließen. Wie die spontane Chromosomenvermehrung im einzelnen (die Verteilung des Chromatins, der Vererbungssubstanz usw.) vor sich geht, das entzieht sich unserer genaueren Kenntnis. Man kann sich aber vorstellen, daß die »männliche Normalzahl« 16, hervorgegangen aus den 8 Chromosomen des weiblichen Vorkerns, aus zwei sogenannten Chromosomensortimenten besteht. Ähnlich könnte man die 32 Chromosomen der weiblichen Keimbahn, hervorgegangen aus 8 weiblichen und 8 männlichen Chromosomen, die je wieder verdoppelt werden, sich zusammengesetzt denken aus 4 Chromosomensortimenten. Dann wären von den 32 Chromosomen beim Weibchen je 4 homolog, von den 16 Chromosomen beim Männchen je 2 homolog. Wie die 16 bzw. 32 Chromosomen bei den angegebenen Reduktionsteilungen verteilt werden, läßt sich schwerlich feststellen (vgl. auch unten), wohl aber ist es möglich, daß hierbei die erwähnten etwaigen Chromosomensortimente wieder isoliert werden.

Meine ganze Erklärung steht nun aber, wie es scheint, in Widerspruch mit SCHLEIPs Ergebnissen über die Eireifung von *Formica sanguinea* (1908). Dort findet man in der Äquatorialplatte der ersten Richtungsspindel 24 Chromosomen. Die Zahl bleibt bei beiden Reifungsteilungen erhalten, so daß in den weiblichen Vorkern wieder 24 Chromosomen kommen. Die gleiche Zahl 24 besteht auch in den Furchungsspindeln des unbefruchtet sich entwickelnden Eies weiter. Im befruchteten Ei fand SCHLEIP mit einiger Wahrscheinlichkeit die doppelte Zahl.

Die Deutung wäre dann die: In den aus befruchteten Eiern hervorgehenden Ameisen ist 48 die Normalzahl. In den Ovocyten erster Ordnung findet durch Syndese eine Pseudoreduktion und in einer der beiden Teilungen eine wirkliche Reduktion auf 24 Einzelchromosomen statt. Die Männchen würden sich aus unbefruchteten Eiern nur mit 24 Chromosomen entwickeln. In ihrer Spermatogenese wäre ganz in Übereinstimmung mit der MEVESschen Anschauung die 24 Chromosomen unvermindert erhalten. Bei *Formica sanguinea* hätten wir also nach SCHLEIP in der weiblichen Keimbahn eine Reduktion, in der männlichen keine Reduktion.

Indes ist hier folgendes in Betracht zu ziehen.

1. Die Ergebnisse der Eireifung von *Formica* (Schleip) können nicht ohne weiteres mit den Ergebnissen der Samenreife bei *Camponotus herculeanus* (Lams) verglichen werden, weil beide Gattungen offenbar ganz verschiedene Chromosomenzahlen besitzen. Es legen aber die Feststellungen von Henking, Lams und Schleip miteinander verglichen die Vermutung nahe, daß auch noch ein anderer Unterschied besteht, daß vielleicht bei einem Teil der Ameisen vor der Eireifung eine Verdoppelung der Chromosomen stattfindet (*Camponotus*, *Lasius*), bei einem andern Teil nicht (*Formica*). Dann würde man wohl begreifen, daß im einen Falle (*Camponotus*) in der Spermatogenese eine Reduktion stattfindet, im andern Falle (*Formica*) aber nicht. Eine Untersuchung der Eireifung von *Camponotus herculeanus* wäre darum wohl lohnend.

2. Auch bei *Formica* finden sich nach Schleip in mehreren Fällen abweichende Chromosomenzahlen, d. h. eine Grundzahl in den verschiedenen Vielfachen.

3. Die Chromosomenformen sind in manchen Fällen voneinander recht verschieden.

4. Die biologischen Verhältnisse bei den Ameisen sind noch nicht ganz klar gestellt; abgesehen davon, daß es hier mehrere Kasten gibt, von denen wahrscheinlich zwei befruchtet werden können, und darum die Untersuchung der Geschlechtsbestimmung erschwert ist, wurden verschiedentlich sichere Ausnahmen von dem Dzierzonschen Geschlechtsbestimmungstypus beschrieben.

4. Chromatinhypothesen der Geschlechtsbestimmung.

In dem einleitenden biologischen Teil wurde die Gültigkeit der Dzierzonschen Theorie auch für die solitären Bienen (indirekt) nachgewiesen. Denn wie bei *Apis* entwickeln sich auch hier Eier, die befruchtet werden, zu Weibchen, Eier, in die ein Sperma nicht eindringt, dagegen zu Männchen. Bei sehr vielen andern Insekten wird aber bekanntlich das Geschlecht durch die Verschiedenheit der Spermien bestimmt.

Man könnte allerdings darauf hinweisen, daß es auch bei *Apis*, *Xylocopa*, *Bombus* und *Osmia* zur Bildung verschiedener Samenzellen kommt, aber diese Verschiedenheit hat keine geschlechtsbestimmende Wirkung.

Denn die kleinere Spermatide, die Hertwig (1912) als männchenbestimmend angesehen hat, entwickelt sich bei den genannten Hymenopteren, mindestens normalerweise, nicht zum Spermium, kommt also nicht zur Verwendung, und trotzdem treten die Männchen stets in ansehnlicher Zahl

auf, bis über 50% bei den solitären Apiden. In andern Fällen (*Vespa*, *Camponotus*) ist die ganz entsprechende Spermatide von der andern der Größe nach nicht verschieden und degeneriert offenbar nicht, sie bestimmt aber wie die Schwesterzelle offenbar ein Weibchen, da auch bei *Vespa* und *Camponotus* normalerweise die Dzierzonsche Theorie gilt. Trotzdem also hier zwei geschlechtlich verschieden präformierte Spermien nicht vorkommen, kann man doch versuchen, sich eine Vorstellung darüber zu machen, in welcher Beziehung die Dzierzonsche Geschlechtsbestimmungsweise zur Geschlechtsbestimmung durch zwei Spermienarten steht.

Man könnte sich zunächst vorstellen, daß der größere oder geringere Chromatinreichtum, also ein quantitativer Unterschied des gesamten Chromatins der Spermien geschlechtsbestimmend ist: Nach von Baehr 1909 erhielt bei *Apis* die eine der beiden Spermatiden allmählich immer weniger Chromatin, so daß also außer den normalen Spermien auch oligopyrene und schließlich apyrene Spermien entstanden. Die chromatinarmen Spermien waren männchenbestimmend. Da sie nun im apyrenen Stadium dem Ei überhaupt kein Chromatin mehr zuführten, ist es begreiflich, daß sie allmählich gar nicht mehr gebildet wurden. Es blieb also nur die eine, mit dem vollen Chromatinbestand ausgestattete, und darum weibchenbestimmende Spermiumart übrig. Von der Erzeugung der Männchen durch oligopyrene Spermien bis zur arrhenotoken Parthenogenese war nur ein Schritt, denn schon die Befruchtung mit apyrenen Spermien ist eigentlich keine Befruchtung mehr. Als Rest der Bildung chromatinarmer, männchenbestimmender Spermien kann man wohl die »erste« kernlose Mevessche Knospe ansehen (nicht die zweite kernhaltige s. o.). Eine ähnliche Auffassung vertreten R. Hertwig 1912 und H. Nachtsheim 1912. Besonders nach letzterem entscheidet die Zahl der Chromosomensortimente über das Geschlecht: Eier mit doppeltem Chromosomensortiment entwickeln sich zu Weibchen, also für gewöhnlich Eier, die befruchtet werden, aber auch solche, die unbefruchtet bleiben, jedoch nur einen Richtungskörper ausgestoßen haben. »Bei den Hymenopteren wird also das Geschlecht durch Reduktionsteilung und Befruchtung bestimmt.« Indes wird man einige Bedenken dagegen äußern müssen, ob gerade die Zahl der Chromosomen bzw. der Chromosomensortimente das Ausschlaggebende ist, denn aus all den Beobachtungen über Chromosomenzahlen bei Hymenopteren scheint hervorzugehen, daß gerade hier, wie wiederholt erwähnt, manche unkontrollierbare Vermehrung (und Verminderung) der Chromosomensortimentszahlen vorkommt. Die Zahl der Chromosomensortimente scheint also etwas Labiles zu sein, und darum

darf man in dieser Zahl selbst nicht das Entscheidende suchen für die wichtigen Unterschiede der Entstehung eines der beiden Geschlechter[1]).

Aber noch auf andre Art kann man die Dzierzonsche Geschlechtsbestimmungsweise in Beziehung bringen zu einer Chromatinhypothese der Geschlechtsbestimmung. Man kann sie als eine Modifikation des »Geschlechtschromosomentypus«, etwa des »Protenortypus«, in folgender Weise auffassen: Es läßt sich denken, daß in einem Chromosomensortiment bei den Apiden auch ein x-Element in irgendeiner nicht näher erkennbaren Weise, etwa ähnlich wie bei *Ascaris*, vorhanden ist. Solche x-Elemente wurden von Schleip 1912 bei der Honigbiene hypothetisch angenommen. Über ihre Verteilung im Verlauf der Chromatingeschichte ließen sich verschiedene Annahmen machen, nur müßte man wohl mit Schleip voraussetzen, daß alle Eier und auch alle funktionierenden Spermien normalerweise sie enthalten. Gerade letzteres wäre nur eine scheinbare Ausnahme gegen die sonst auftretende Regel, daß nur die Hälfte der Spermien ein x-Element enthält; denn bei den Hymenopteren mit ihrer eigenartigen Samenreifung kommt überhaupt höchstens die Hälfte der Spermatocyten zur Ausbildung, ja vielleicht hatte gerade die ungleiche Verteilung im Chromatin ungleiche Verteilung des Plasmas und damit allmähliche Unterdrückung der einen Spermatocytengeneration, welche die männchenbestimmenden Spermien ohne x-Elemente lieferte, zur Folge. Eier mit 2 x-Elementen geben Weibchen, Eier, die ohne ein zweites x-Element sich entwickeln (für gewöhnlich ohne das aus dem Sperma stammende), geben Männchen. Oder vielleicht besser etwas allgemeiner gefaßt:

Je nachdem bei Eiern das Verhältnis von x-Substanz zu Autochromatinsubstanz größer oder kleiner ist, entstehen Weibchen oder Männchen.

So würde dann wohl die genauere »cytologische Formel« der Dzierzonschen Geschlechtsbestimmung lauten.

Eigentliche Heterochromosomen sind bei Hymenopteren freilich nicht bekannt, auch die cytologischen Befunde bei *Osmia* sprechen nicht für ihr Vorhandensein. Deswegen können aber doch bei Hymenopteren x-Elemente wirksam sein. Wenn man sich zu ihrer Annahme entschließt,

---

[1]) R. Hertwig stellte seine Angaben mit einiger Vorsicht auf; in der Tat darf nicht übersehen werden, daß die eine »Hauptstütze«, das Resultat Doncasters an Blattwespen, namentlich an *Nematus*, vom Autor selbst wieder in Zweifel gezogen wurde (1907 und 1908) und bei den Ameisen sowohl die Ergebnisse der Biologie (Wasmann 1891, Reichenbach 1902, Holliday 1903, Wheeler 1903, Castle 1904, Fielde 1905, Escherich 1906, Crawley 1911), als auch der Cytologie (Henking 1892, Schleip 1908, Lams 1908) einer einheitlichen Erklärung noch Schwierigkeiten bereiten.

werden manche Verhältnisse zweifellos besser erklärt. Man hat vor allem z. B. den Vorteil, daß man das ausnahmsweise Entstehen von Männchen aus befruchteten Eiern leichter sich vorstellen kann als mit Hilfe der Geschlechtsbestimmungsformel Nachtsheims.

Denn die beobachtete Vererbung von Drohneneigenschaften auf die junge Drohnenbrut in einem Bienenstock, und manche Resultate biologischer Experimente lassen es geraten erscheinen, diese Möglichkeit offen zu lassen. Auch das oben erwähnte rätselhafte Überwiegen der Männchen bei anormalen, offenbar ungünstigen Verhältnissen, für das man die Gründe, wie gezeigt wurde, am ehesten beim eierlegenden Weibchen suchen muß, ließe sich auf diese Weise befriedigender erklären.

Für gewöhnlich werden die x-Elemente mit ihren Chromosomensortimenten verbunden bleiben, aber es ist wohl denkbar, daß ein x-Element sich irgendwo »verirrt« (Wilson 1909), oder daß es unter dem Einfluß ungünstiger Verhältnisse ganz verkümmert (vgl. *Angiostomum* nach Boveri 1911 und Schleip 1911), oder doch soweit verändert wird, daß es nicht mehr wirksam sein kann.

Und während der von R. Hertwig aufgestellte Hymenopterentypus nicht einmal für alle Hymenopteren Geltung hat, wäre durch die Annahme von x-Elementen doch wohl der Weg gebahnt zu einer mehr einheitlichen Erklärung der Geschlechtsbestimmungsweise.

Am Schlusse dieser Untersuchung über die Chromosomenverhältnisse bei Apiden wird man auf alle Fälle Grund haben, einem Worte R. Hertwigs (1912) beizupflichten: »Wir stehen hier vor einer Reihe unentschiedener Fragen, welche der zukünftigen Forschung ein reiches Feld eröffnen.«

V. Zusammenfassung.

Keine andre der bisher aufgestellten Geschlechtsbestimmungstheorien erklärt die biologischen Verhältnisse bei solitären Bienen so gut wie die Dzierzonsche Theorie.

Das Geschlecht ist wegen der außerordentlich raschen Entwicklung der Keimzellen sehr früh zu erkennen.

Es ist erkennbar festgelegt lange vor dem Beginn der Nahrungsaufnahme. Das Futter bestimmt nicht das Geschlecht.

Eine Beeinflussung des gelegten Eies etwa durch die Mutter ist hier (noch mehr als bei der Honigbiene) im höchsten Maße unwahrscheinlich.

Bei anormalen (ungünstigen) Verhältnissen läßt sich bis jetzt ein Überwiegen der Männchen konstatieren.

Der Hoden von *Osmia cornuta* besteht aus 6 parallelen Schläuchen.

Es findet auch hier Spermatocystenbildung statt.

Wahrscheinlich die 6. Generation der Spermatogonien teilt sich nicht mehr, sondern beginnt eine lange Wachstumsperiode.

Die Spermatogonienteilungen zeigen geringe Polstrahlung.

Es treten ungefähr 16 Chromosomen in die Teilung ein, ungefähr 16 weisen auch die Tochterplatten auf.

Wenigstens während der ganzen Wachstumsperiode lassen sich die Chromosomen als solche erkennen.

Sie liegen, etwa 16 an Zahl, in Stäbchengestalt auf der Kernperipherie.

Der Reifungsspindel ordnen sie sich, indem sie sich verkürzen, als 16 Kugeln von gleichmäßiger Größe ein.

Eine Gruppierung zu je 2 vor dem Auseinanderrücken ist in den meisten Fällen zu konstatieren.

Von den 16 Chromosomen rücken bei der Kernteilung je 8 auseinander in die Teilstücke.

Die Teilstücke sind ungleich durch außerordentlich verschiedenen Plasmagehalt.

Die Polstrahlung ist bei der Spermatocytenteilung besonders auffallend.

Die Abschnürung einer kernlosen Protoplasmaknospe (»1. Richtungskörper«) ist hier nicht sicher, eher unwahrscheinlich.

1—3 chromatoide Körper in verschiedener Größe lassen sich von der beginnenden Wachstumsperiode an nachweisen. Ihre Verteilung bei der Reifeteilung ist ungewiß.

4 Monate nach dem abgelaufenen Eistadium, 7 Monate vor der Verwendung, sind alle Keimzellen in fertige Spermatozoen umgewandelt.

Die somatische Chromosomenzahl ist viel größer als die der Keimbahn (mindestens 32). Die Polstrahlung ist im Soma minimal.

Die bisherigen Angaben über die Natur der Kernteilung bei der Samenreife von *Apis*, *Camponotus*, *Xylocopa* sind zu ergänzen bzw. zu revidieren.

Wenn man bei der Eireifung und Befruchtung gleiche Verhältnisse wie bei *Apis mellifica* voraussetzt, ist die Reduktion der schon reduzierten Chromosomenzahl bei der Samenreife zu verstehen.

Die Chromosomenverhältnisse bei der Spermatogenese sprechen nicht für eine Bindung der Chromosomen.

Für die theoretischen Ergebnisse über Reduktion und Geschlechtsbestimmung sei auf Seite 296 bis 303 verwiesen.

Freiburg i. Br., Zoologisches Institut, 1. Dezember 1912.

Nachschrift.

Die wichtigeren Resultate vorliegender Abhandlung wurden schon veröffentlicht (1913, Januar). LEOPOLD GRANATA hat daraufhin seine Untersuchungen über die Samenreifung bei *Xylocopa violacea* 1909 ergänzt (1913, April). Er glaubt an seiner Ansicht festhalten zu sollen: »*Nelle piastre equatoriali si contano* 16 *cromosomi doppi; la divisione separa le due metà longitudinali. ... L'unica divisione nucleare è equazionale e il numero dei cromosomi degli spermatogoni* (16) *passa non ridotto nello spermatide.*«

Da die von mir begonnene Untersuchung der Samenreifung bei *Chalicodoma*, der Mörtelbiene, die gegenüber der von *Osmia* interessante Abweichungen aufweist, weitere Klärung der Sache verspricht, und da das Studium der Eireifung von *Osmia cornuta* einige Resultate zeitigte, behalte ich es mir vor, auf die Frage und auf GRANATAS Arbeit zurückzukommen.

In den letzten Tagen kamen eine größere Zahl von lehrreichen »Linienestern«, hauptsächlich von Osmien, in meine Hand, wodurch ich hoffe Gelegenheit zu erhalten, den biologischen Teil vorliegender Arbeit noch etwas näher zu illustrieren.

Bei der Vergleichung der Verhältnisse bei *Chalicodoma* mit denen bei *Apis* zeigte es sich in einem Falle, daß bei der Reifeteilung der männlichen Keimzellen die Tochterplatten deutlich mehr als 8 Chromosomen enthielten. Es sei diesbezüglich auf die früher S. 297 gemachten Bemerkungen von der verfrühten Verdoppelung und vom unkontrollierbaren Schwanken der Chromosomenzahl verwiesen.

Literaturverzeichnis.

ADAM, ALEXANDER. 1912. Bau und Mechanismus des Receptaculum seminis bei den Bienen, Wespen und Ameisen. In: Zool. Jahrb., Anat. Bd. XXXV.

*ADLERZ, GOTTFRIED. 1896. Myrmecologista studier. 3. Thomognathus sublaevis Mayr. In: Bih. Svenska Akad. Handl. Vol. XXI.

ARMBRUSTER, LUDWIG. 1913. Über die Chromatinverhältnisse bei solitären Bienen und ihre Beziehung zur Frage der Geschlechtsbestimmung. In: Ber. Naturforsch. Gesellsch. Freiburg Bd. XX. (Januar.)

BAEHR. W. B. VON. 1907. Über die Zahl der Richtungskörper in parthenogenetisch sich entwickelnden Eiern von Bacillus rossii. In: Zool. Jahrb., Anat. Bd. XXIV.

—— 1909. Die Oogenese bei einigen viviparen Aphididen und die Spermatogenese von Aphis saliceti mit besonderer Berücksichtigung der Chromatinverhältnisse. In: Arch. f. Zellforsch. Bd. III.

—— 1912. Contribution à l'étude de la caryocinèse somatique, de la Pseudoréduction et la réduction (Aphis saliceti). In: La Cellule. T. XXVII.

*Benetti. 1903. Ricerche biologiche sui Bombi. In: Monit. Z. Ital. Anno 13 Suppl.
Blochmann, F. 1886. Über die Reifung der Eier bei Ameisen und Wespen. In: Univers.-Festschrift Heidelberg.
—— 1887. Über die Zahl der Richtungskörper bei befruchteten und unbefruchteten Bieneneiern. In: Morph. Jahrb. Bd. XV.
Boveri, Th. 1887a. Über die Bedeutung der Richtungskörper. In: Sitzber. Ges. Morph. u. Physiol. München. Bd. II. 1886.
—— 1887b. Zellenstudien. Hft. I. Jena.
—— 1902. Über mehrpolige Mitosen als Mittel zur Analyse des Zellkernes. In: Verh. phys.-med. Ges. Würzburg. N. F. Bd. XXXV.
—— 1908. Über Beziehungen des Chromatins zur Geschlechtsbestimmung. In: Sitzber. phys.-med. Ges. Würzburg 1908/09.
—— 1909a. Die Blastomerenkerne von Ascaris megalocephala und die Theorie der Chromosomenindividualität. In: Arch. f. Zellforsch. Bd. III.
—— 1909b. Über Geschlechtschromosomen bei Nematoden. In: Arch. f. Zellf. Bd. IV.
—— 1911. Über das Verhalten der Geschlechtschromosomen bei Hermaphroditismus. Beobachtungen an Rhabditis nigrovenosa. In: Sitzber. phys.-med. Ges. Würzburg.
Brauer, A. 1893. Zur Kenntnis der Spermatogenese von Ascaris megalocephala. In: Arch. mikr. Anat. Bd. XLII.
Bresslau, E. 1905. Der Samenblasengang der Bienenkönigin. Studien über den Geschlechtsapparat und die Fortpflanzung der Bienen. 1. In: Zool. Anz. Bd. XXIX.
—— 1908a. Die Dickelschen Bienenexperimente. Studien über den Geschlechtsapparat und die Fortpflanzung der Bienen. 2. In: Zool. Anz. Bd. XXXII.
—— 1908b. Über die Versuche zur Geschlechtsbestimmung der Honigbiene. Zu Dickels und v. Buttels und meinen Bienenexperimenten. In: Zool. Anz. Bd. XXXIII.
Bruyne, C. de. 1899. La cellule folliculaire du testicule d'Hydrophilus piceus. In: Anat. Anz. Bd. V. Verhandl. Anatom. Ges. 13. Vers.
Buchner, P. 1909. Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese der Orthopteren, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Reduktion. In: Arch. f. Zellforsch. Bd. III.
—— 1910. Von den Beziehungen zwischen Centriol und Bukettstadium. In: Arch. f. Zellforsch. Bd. V.
Bugnion, Ed. 1891. Recherches sur le développement postembryonnaire, l'anatomie et les mœurs de l'Encyrtus fuscicollis. In: Recueil zool. Suisse. T. V.
—— 1910. Les cellules sexuelles et la détermination du sexe. In: Bull. Soc. Vaudoise Lausanne Sc. nat. T. XLVI.
Buttel-Reepen, H. von. 1903. 1. Die stammesgeschichtliche Entstehung des Bienenstaates sowie Beiträge zur Lebensweise der solitären und sozialen Bienen (Hummeln, Meliponinen usw.). Leipzig.
—— 1904. Über den gegenwärtigen Stand der Kenntnisse von den geschlechtsbestimmenden Ursachen bei der Honigbiene (Apis mellifica); ein Beitrag zur Lehre von der geschlechtlichen Präformation. In: Verh. Deutsch. Zool. Ges. 14. Vers.
—— 1908. Zur Fortpflanzungsgeschichte der Honigbiene 1. In: Zoolog. Anzeig. Bd. XXXIII.

Carriere, J. und Buerger, O. 1897. Die Entwicklungsgeschichte der Mauerbiene (Chalicodoma muraria Fabr.) im Ei. In: Nova Acta Acad. Leop. Carol. Bd. LXIX.

*Castle, W. E. 1904. Sex determination in Bees and Ants. In: Science (2). Vol. XIX.

*Crawley, W. C. 1911. Parthenogenesis in Worker Ants, with special reference to two colonies of Lasius niger. In: Trans. Entom. Soc. Vol. III and IV.

Cuénot, L. 1899. Sur la détermination du sexe chez les animaux. In: Bull. Sc. France Belgique. Bd. XXXII.

Dehorne, 1910. Sur la coexistence de la division et d'une subdivision des chromosomes à l'état quiescent. In: C. R. séances Acad. Sciences. T. XLI.

—— 1911. Recherches sur la division de la cellule. I. Le duplicisme constant du chromosome somatique chez Salamandra maculosa et chez Allium cepa. In: Arch. f. Zellforsch. Bd. VI.

—— Recherches sur la division de la cellule. 2. Homéotypie et hétérotypie chez les Annélides, Polychètes et les Trematodes . In: Arch. f. Zool. expérim. génér. T. XLIX.

Delage, Y. 1909. Le sexe chez les Oursins issus de parthénogenèse expérimentale In: C. R. Acad. Sc. Paris. T. CXLVIII.

Demoll, Reinhard. 1912. Über Geschlechtsbestimmung im allgemeinen und über die Bestimmung der primären Sexualcharaktere im besonderen: In: Zool. Jahrb., Physiol. Bd. XXXIII.

Dickel, Ferd. 1901a. Über Petrunkewitschs Untersuchungsergebnisse von Bieneneiern. In: Zool. Anz. Bd. XXV.

—— 1901b. Meine Ansicht über die Freiburger Untersuchungsergebnisse von Bieneneiern. In: Anat. Anz. Bd. XIX.

—— 1901c. Tatsachen entscheiden, nicht Ansichten. In: Anat. Anz. Bd. XIX.

—— 1903. Die Ursachen der geschlechtlichen Differenzierung im Bienenstaat. (Ein Beitrag zur Vererbungsfrage.) In: Arch. Gesamte Phys. Bd. XCV.

—— 1908. Zur Frage nach der Geschlechtsbestimmung der Honigbiene. Zu E. Bresslaus Bienenexperimenten. In: Zool. Anz. Bd. XXXIII.

—— 1909. Weitere Beiträge zur Frage nach der Geschlechtsbestimmung bei der Honigbiene. Zu Bresslaus Ausführungen 1 u. 2. In: Zool. Anz. XXXIV.

—— 1910. Über das Geschlecht der Bienenlarven. In: Zool. Anz. Bd. XXXVI.

Doflein, Franz. 1898. Karyokinese des Spermakernes. In: Arch. mikr. Anat. Bd. L.

Doncaster, L. 1906a. Spermatogenesis of the Hive Bee. In: Anat. Anz. Bd. XXIX.

—— 1906b. On the Maturation of the Unfertilized Egg, and the Fate of the Polar Bodies in the Tenthredinidae (Saw-flies). In: Quart. Journ. microsc. Sc. (N. S.) Vol. XLIX.

—— 1907a. Gametogenesis and Fertilisation in Nematus ribesii. In: Quart. Journ. microsc. Sc. (N. S.). Vol. LI.

—— 1907b. Spermatogenesis of the Honey Bee (Apis mellifica) Correction. In: Anat. Anz. V. LXXXII.

—— 1909. Gametogenesis of the Sawfly Nematus ribesii. A Correction. In: Nature. Vol. LXXXII.

—— 1910a. Gametogenesis of the Gallfly, Neuroterus lenticularis (Spathegaster baccarum). Part 1. In: Proc. Roy. Soc. London. B. Vol. LXXXII.

—— 1910b. Idem. Part 2. In: Proc. Roy. Soc. London. B. Vol. LXXXIII.

*DOTEN, S. B. 1911. Concerning the Relation of Food to Reproductive Activity in Certain Hymenopterous Parasites. In: Nevada Agr. Exp. Stat. Technical Bull. Vol. LXXVIII.

DUCKE, ADOLF. 1900. Die Bienengattung Osmia. Monographie. In: Ber. nat.-med. Ver. Innsbruck. 25. Jahrg. 1899/00.

DUESBERG, J. 1910. Nouvelles recherches sur l'appareil mitochondrial des cellules séminales. In: Arch. f. Zellforsch. Bd. VI.

EMERY, C. 1896. Le polymorphisme des Fourmis et la castration alimentaire. Congrès Internation. Zool. 3. Sess.

—— 1910. Considerazioni intorno alla regola del DZIERZON sulla determinazione del sesso nelle Api e in altri Imenotteri. In: Rend. Accad. Sc. Bologna.

ESCHERICH, K. 1906. Die Ameise, Schilderung ihrer Lebensweise. Braunschweig.

FABRE, I. H. 1891. Souvenirs Entomologiques. Etudes sur l'instinct et les Mœurs des Insectes. 2. Edition. Paris.

FICK, R. 1907. Vererbungsfragen, Reduktions- und Chromosomenhypothesen, Bastardregeln. In: Anat. Hefte 2. Abt. Bd. XVI.

FIELDE, ADELE M. 1902a. A study of an Ant. In: Proc. Acad. N. Sc. Philadelphia. Vol. LIII.

—— 1905. Observation on the progeny of virgin ants. In: Biol. Bull. Woods Holl. Vol. IX.

FRIESE, H. 1889. Die Schmarotzerbienen und ihre Wirte. In: Zool. Jahrb., Syst. Bd. III.

—— 1891a. Osmien-Studien. In: Berl. Entom. Nachr. 17. Jahrg.

—— 1891b. Beiträge zur Biologie der solitären Blumenwespen (Apidae). In: Zool. Jahrb., Abt. Syst. Bd. V.

—— 1893. Die Bienenfauna von Deutschland und Ungarn. Berlin.

—— 1895. Beitrag zur Bienenfauna von Baden und Elsaß. In: Ber. Naturf. Gesellsch. Freiburg i. Br. Bd. IX.

—— 1895—1901. Die Bienen Europas (Apidae Europaeae) nach ihren Gattungen, Arten und Varietäten auf vergleichend morphologisch-biologischer Grundlage. Teil 1—6. Innsbruck und Berlin.

—— 1898. Über Osmien-Nester. In: Illustr. Zeitschr. Entom. Bd. III.

GIGLIO-TOS, E. 1905. Della partenogenesi e della spermatogenesi dell'ape. In: Anat. Anz. Bd. XXVI.

GILSON, G. 1885—88. Etude comparée de la spermatogenèse chez les Arthropodes. In: La Cellule. T. I—IV.

GOLDSCHMIDT, R. 1911. Accessorisches Chromosom und Geschlechtsbestimmung. In: Arch. f. Zellforsch. Bd. VI.

GRANATA, LEOPOLD. 1909. Le divisioni degli spermatociti di Xylocopa violacea L. In: Biologica (Torino). Vol. II. Nr. 15.

—— 1910. Le cinesi spermatogenetiche di Pamphagus marmoratus (Burm.). In Arch. f. Zellforsch. Bd. V.

—— 1913. Ancora sulle divisioni degli spermatociti di Xylocopa violacea L. In: Monitore Zool. Ital. Anno XXIV.

GRÉGOIRE, V. 1905. Les résultats acquis sur les cinèses de maturation dans les deux règnes (premier mémoire) Revue critique de la littérature. In: La Cellule. T. XXII.

GROSS, J. 1912. Heterochromosomen und Geschlechtsbestimmungen bei Insekten. In: Zool. Jahrb., Physiol. Bd. XXXII.

HÄCKER, V. 1907. Praxis und Theorie der Zellen- und Befruchtungslehre. Jena.

—— 1897. Die Chromosomen als angenommene Vererbungsträger. In: Erg. Fortschr. Zool. Bd. I.

HENKING, W. 1891. Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge in den Eiern der Insekten. 2. Über Spermatogenese und deren Beziehungen zur Eierentwickl. bei Pyrrhocoris Apterus L. In: Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LI.

—— 1892. Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge in den Eiern der Insekten. In: Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LIV.

HERTWIG, R. 1905. Über das Problem der sexuellen Differenzierung. In: Verh. Deutsch. Zool. Ges. 15. Vers.

—— 1912. Über den derzeitigen Stand des Sexualitätsproblems nebst eignen Untersuchungen. In: Biol. Centralbl. Bd. XXXII.

HÖPPNER, HANS. 1899. Zur Biologie nordwestdeutscher Hymenopteren. 1. Das Werben der Männchen bei Hymenopteren. In: Allg. Zeitschr. Entom. Bd. IV.

—— 1901. Weitere Beiträge zur Biologie nordwestdeutscher Hymenopteren. 3. Prosopis kriechbaumeri. In: Allg. Zeitschr. Entom. Bd. VIII.

—— 1904. Zur Biologie der Rubus Bewohner:
1. Gasteruption accectator Fabr., ein neuer Schmarotzer der Rubus bewohnenden Prosopis-Arten. — 2. Osmia parvula Duf. et Perr., Osmia leucomelaena K. und ihr Schmarotzer Stelis ornatula Nyl. — 3. Eurytoma rubicola Gir. und ihre Wirte. In: Allg. Zeitschr. Entom. Bd. IX.

—— 1903. Weitere Beiträge zur Biologie nordwestdeutscher Hymenopteren Caenocryptus bimaculatus. In: Allg. Zeitschr. Entom. Bd. VIII.

HOLLIDAY, MARGARET. 1903. A Study of some Ergatogynic Ants. In: Zool. Jahrb., Syst. Bd. XIX.

HUNTER, S. J. 1910. Über die Parthenogenese der Braconiden. On the Transition from Parthenogenesis to Gamogenesis in Aphids and Braconids. In: Science. 2, Vol. XXXI.

IHERING, H. VON. 1903. Biologie der stachellosen Honigbienen Brasiliens. In: Zool. Jahrb., Syst. Bd. XIX.

JÖRGENSEN, MAX. 1910. Zur Entwicklungsgeschichte des Eierstockeies von Proteus anguineus (Grottenolm). (Die Wachstumsperiode.) In: Festschr. R. HERTWIG. Bd. I.

KORSCHELT, E. und HEIDER, K. 1902—1903. Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der wirbellosen Tiere. In: Allg. Teil 1, 2. Jena.

KOSCHEWNIKOFF, G. 1891. Zur Anatomie der männlichen Geschlechtsorgane der Honigbiene. In: Zool. Anz. Jahrg. 1.

KOWALEWSKY, N. 1911. Der geschlechtsbestimmende Faktor bei Tieren. Zur Frage der willkürlichen Beeinflussung des Geschlechts der Keime bei den Säugetieren und Vögeln. In: Biol. Centralbl. Bd. XXXI.

*KRIEGER, R. 1892. Zwei Hymenopterenzwitter. In: Zeitschr. Naturw. Halle. Bd. LXV.

KRÜGER, E. 1912. Die phylogenetische Entwicklung der Keimzellenbildung einer freilebenden Rhabditis. In: Zool. Anz. Bd. XL.

—— 1913. Fortpflanzung und Keimzellenbildung von Rhabditis aberrans, nov. sp. In: Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. CV.

Kuckuck, M. 1906. Über die Ursache der Reifeteilungen und den Charakter der Polkörper. In: Anat. Anz. Bd. XXIX.

Kühn, Alfred. 1908. Die Entwicklung der Keimzellen in den parthenogenetischen Generationen der Cladoceren Daphnia pulex De Geer und Polyphemus pediculus de Geer. In: Arch. f. Zellforsch. Bd. I.

Kuschakewitsch, S. 1910. Zur Kenntnis der sogenannten wurmförmigen Spermien der Prosobranchier. In: Anat. Anz. Bd. XXXVII.

Lampert, 1886. Die Mauerbiene und ihre Parasiten. Eine biologische Studie. In: Jahresh. Verein vat. Nat. Württemb. 42. Jahrg.

Lams, W. 1908. Les divisions des spermatocytes chez la fourmi (Camponotus herculeanus L.). In: Arch. f. Zellforsch. Bd. I.

*Leuckart, R. 1858. Zur Kenntnis des Generationswechsels und der Parthenogenesis bei den Insekten. Frankfurt 1858.

Lutman, B. F. 1910. The spermatogenesis of the Caddis-fly (Platyphylax designatus Walter). In: Biol. Bull. Bd. XIX.

Marchal, Paul. 1896. La reproduction et l'évolution des Guêpes sociales. In: Arch. Zool. Expér. (3). T. IV.

—— 1904. Le déterminisme de la polyembryonie spécifique et le déterminisme du sexe chez les Hyménoptères à développement polyembryonnaire. In: C. R. Soc. Biol. Paris. T. LVI.

Mark, E. L. 1881. Maturation, Fecundation and Segmentation of Limax campestris, Binney. In: Bulletin of the Museum of comparative Zoology at Harvard College. Vol. VI.

Mark, E. L. und Copeland, Manton. 1906. Some Stages in the Spermatogenesis of the Honey Bee. In: Proceed. of the Amer. Acad. Arts Science. Vol. XL.

—— 1907. Maturation stages in the spermatogenesis of Vespa maculata L. In: Proceed. Americ. Acad. Arts Science. Vol. XLIII.

Meves, Fr. 1896. Über die Entwicklung der männlichen Geschlechtszellen von Salamandra maculosa. In: Arch. mikr. Anat. Bd. XLVIII.

Meves, Fr. und von Korf. 1901. Zur Kenntnis der Zellteilung bei Myriopoden. In: Arch. mikr. Anat. Bd. LVII.

Meves, Fr. 1902. Über oligopyrene und apyrene Spermien und über ihre Entstehung nach Beobachtungen an Paludina und Pygaera. In: Arch. mikr. Anat. Bd. LXI.

—— 1903. Über Richtungskörperbildung im Hoden von Hymenopteren. In: Anat. Anz. Bd. XXIV. Zuerst vorläufig veröffentlicht in den Mitteilungen des Vereins schleswig-holsteiner Ärzte. Jahrg. XI. Bd. VI.

—— 1907. Die Spermatocytenteilungen bei der Honigbiene (Apis mellifica L.), nebst Bemerkungen über Chromatinreduktion. In: Arch. mikr. Anat. Bd. LXX.

Meves, Fr. und Duesberg, Jules. 1908. Die Spermatocytenbildung bei der Hornisse (Vespa crabro L.). In: Arch. mikr. Anat. Bd. LXXI.

Montgomery, Th. H. 1899. The Spermatogenesis in Pentatoma up to the Formation of the Spermatid. In: Zool. Jahrb., Anat. Bd. XII.

—— 1900. The Spermatogenesis of Peripatus (Peripatopsis) balfuri up to the Formation of the Spermatid. In: Zool. Jahrb., Anat. Bd. XIV.

—— 1910. On the Dimegalous sperm and Chromosomal Variation of Euchistus with Reference to Chromosomal continuity. In: Arch. f. Zellforsch. Bd. V.

Muckermann, Hermann. 1912. Zur Anordnung, Trennung und Polwanderung der Chromosomen in der Metaphase und Anaphase der somatischen Karyokinese bei Urodelen. In: La Cellule. T. XXVIII.

Müller, Hermann. 1872. Anwendung der Darwinschen Lehre auf Bienen. In: Verh. naturhist. Ver. preuß. Rheinl. u. Westf. Bd. XXIX.

Müller, W. H. 1882. Proterandrie der Bienen. Diss. Jena. Liegnitz.

Nachtsheim, H. 1912. Parthenogenese, Eireifung und Geschlechtsbestimmung bei der Honigbiene. In: Sitzber. Ges. Morph. Physiol. München (Mai).

Nicolas, W. 1893. Vues générales sur les Hyménoptères. In: Congr. Internat. Zool. 2. Sess.

Paulcke, Wilhelm. 1899. Zur Frage der parthenogenetischen Entstehung der Drohnen. In: Anat. Anz. Bd. XVI.

—— 1900. Über Differenzierung der Zellelemente im Ovarium der Bienenkönigin. In: Zool. Jahrb., Anat. Bd. XIV.

Payne, F. 1909. Some new types of chromosome distribution and their relation to sex. In: Biol. Bull. Vol. XVI.

Petrunkewitsch, Alex. 1901. Die Richtungskörper und ihr Schicksal im befruchteten und unbefruchteten Bienenei. In: Zool. Jahrb., Morph. Bd. XIV.

—— 1902. Das Schicksal der Richtungskörper im Drohnenei. In: Zool. Jahrb., Anat. Bd. XVII.

Pflüger, E. 1903. Über die jungfräuliche Zeugung der Bienen. In: Arch. ges. Physiologie. Bd. XCIX.

Platner, G. 1889. Über die Bedeutung der Richtungskörperchen. In: Biol. Centralblatt. Bd. VIII.

Popoff, Methodi. 1907. Depression der Protozoenzelle und der Geschlechtszellen der Metazoen. In: Arch. Protistenk. Jena. Suppl. 1.

Popovici-Baznosanu, A. 1909. Etude biologique comparée sur quelques espèces d'Osmia. In: Arch. Zool. Expér. (5). T. II.

—— 1910. Relation entre la taille de l'adulte et la quantité de nourriture absorbée par les larves chez l'Osmia rufa et l'Osmia cornuta. In: C. R. Soc. Biol. Paris. T. LXVIII.

vom Rath, O. 1892. Zur Kenntnis der Spermatogenese von Gryllotalpa vulgaris Latr. In: Arch. mikr. Anat. Bd. XL.

Reaumur, M. de 1748. Mémoires pour servir à l'histoire des Insectes. T. VI. Partie 1.

Reichenbach, H. 1902. Über Parthenogenese bei Ameisen und andre Beobachtungen an Ameisenkolonien in künstlichen Nestern. In: Biol. Centralbl. Nr. XXI.

Riley, Wm. A. 1892. The Larger Digger Wasp Insekt Life. Washington. Vol. IV.

—— 1907a. Polyembryony and sex-determination. In: Science (2). Vol. XXV

—— 1907b. The parthenogenesis of Encyrtus. Ibid.

Rückert, Jakob. 1892. Zur Entwicklungsgeschichte des Ovarialeies bei Selachiern. In: Anat. Anz. Bd. VII.

Schaeffer, Jakob Christian. 1764. Abhandlungen von Insekten. Bd. II. Regensburg.

Schenck, A. 1859. Die nassauischen Bienen. In: Jahrb. Ver. Naturk. Herzogt. Nassau. Hft. 14. Wiesbaden mit Nachträgen. 1868.

Schleip, Waldemar. 1906. Die Entwicklung der Chromosomen im Ei von Planaria maculata Dug. In: Zool. Jahrb. Bd. XXIII.

Schleip, Waldemar, 1907. Die Samenreifung bei den Planarien. In: Zool. Jahrb., Anat. Bd. XXIV.

—— 1908. Die Richtungskörperbildung im Ei von Formica sanguinea. In: Zool. Jahrb., Morph. Bd. XXVI.

—— 1909 a. Die Reifung des Eies von Rhodites rosae L. und einige allgemeine Bemerkungen über die Chromosomen bei parthenogenetischer Fortpflanzung. In: Zool. Anz. Bd. XXXV.

—— 1909 b. Vergleichende Untersuchung der Eireifung bei parthenogenetisch und bei geschlechtlich sich fortpflanzenden Ostracoden. In: Arch. f. Zellforsch. Bd. II.

—— 1911. Das Verhalten des Chromatins bei Angiostomum (Rbabdonema) nigrovenosum. Ein Beitrag zur Kenntnis der Beziehungen zwischen Chromatin und Geschlechtsbestimmung. In: Arch. f. Zellforsch. Bd. VII.

—— 1912. Geschlechtsbestimmende Ursachen im Tierreich. In: Erg. Fortschr. Zool. Bd. III.

Schmiedeknecht, O. 1907. Die Hymenopteren Mitteleuropas. Jena.

Schneider, A. 1880. Über die Auflösung der Eier und Spermatozoen in den Geschlechtsorganen. In: Zool. Anz. Bd. III.

Schreiner, A. und K. E. 1906. Neue Studien über die Chromatinreifung der Geschlechtszellen. 3. Die Reifung der Geschlechtszellen von Ophyotrocha puerilis. In: Anat. Anz. Bd. XXIX.

—— 1908. Gibt es eine parallele Conjugation der Chromosomen? In: Videnskabs-Selskabets Skrifter 1. Math.-Naturv. Klasse 1908. Nr. 4. Kristiania.

Seurat. 1898. Observations sur les organes génitaux des Braconides. In: Anat. Sc. Nat. (8). T. VII.

Shull, A. F. 1911. Studies etc. 2. The role of temperatur of the chemical composition of the medium and of internal factors upon the ratio of parthenogenetic to sexual forms. In: Journ. exper. Zool. Vol. X.

von Siebold. 1869. Über die Parthenogenesis von Polistes gallica. In: Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XX.

*Silvestri, Fil. 1906. Contribuzione alla conoscenza biologica degli Imenotteri parassiti i Biologia del Litomastix truncatellus (Dalm.). 2. Nota preliminare. In: Anali Scuola Agricolt. Portici. Vol. VI.

*—— 1908. Contribuzioni alla conoscenza biologica degli Imenotteri parassiti Agemiaspis fuscicollis etc. In: Bull. Lab. Zool. Scuol. Agricolt. Portici. Vol. III.

Stevens. 1903. On the Ovogenesis and Spermatogenesis of sagitta bipunctata. In: Zool. Jahrb., Anat. Bd. XVIII.

Taschenberg, O. 1893. Historische Entwicklung der Lehre von der Parthenogenesis. In: Abh. Naturf. Ges. Halle. Vol. XVII.

Vassiliew, J. 1908. Über neue Fälle von Parthenogenese in der Familie der Chalcidicae. In: Zeit. Wiss. Insektenbiol. Berlin. Bd. III.

Verhoeff, C. 1892 a. Einige Worte zu H. Frieses Osmienstudien und über einen Bau (Osmia tridentata). In: Ent. Nachr. Jahrg. XVIII.

—— 1892 b. Beiträge zur Biologie der Hymenoptera. In: Zool. Jahrb., Syst. Bd. VI.

—— 1892 c. Neue und wenig bekannte Gesetze aus der Hymenopteren-Biologie. In: Zool. Anz. Jahrg. XV.

Wasmann, E. 1891 a. Parthenogenese bei Ameisen durch künstliche Temperaturverhältnisse. In: Biol. Centralbl. Bd. XI.

Wasmann, E. 1891b. Über die verschiedenen Zwischenformen von Weibchen und Arbeiterinnen bei Ameisen. In: Stettin. Ent. Zeit. Bd. LI.
Wassilieff, J. W. 1904. Über Parthenogenese bei den Arten der Schlupfwespengattung Telenomus. In: Zool. Anz. Bd. XXVII.
Weismann, August und Ishikawa. 1887. Über die Bildung der Richtungskörper bei tierischen Eiern. In: Ber. Nat. Ges. Freiburg. Bd. III.
Weismann, August. 1887. Über die Zahl der Richtungskörper und über ihre Bedeutung für die Vererbung. Jena.
—— 1900. Über die Parthenogenese der Bienen. In: Anat. Anz. Bd. XVIII.
—— 1904. Vorträge über Descendenztheorie. 2. Aufl. Jena.
Wheeler, W. M. 1903. The origin of female and worker ants from the eggs of parthenogenetic workers. In: Science. Vol. XVIII.
Wilson, E. B. 1909a. The chromosomes of Metapodius. A contribution to the hypothesis of the genetic continuity of chromosomes. In: Journ. exper. Philadelphia. Zool. Vol. VI.
—— 1909b. Recent researches on the Determination and heredity of sex. In: Science (N. S.). Vol. XXIX.
—— 1910. Selective fertilization and the Relation of the Chromosomes to sex-production. In: Science (N. S.) Vol. XXXII.
—— 1911. The Sex chromosomes x. In: Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXVII.
Die mit * bezeichneten Arbeiten waren nicht zugänglich.

Erklärung der Figuren.

Sämtliche cytologischen Figuren sind mit Hilfe des Abbeschen Zeichenapparates in Objekttischhöhe entworfen. Vergrößerung etwa 2000 (Zeiss Apochromat 1,5 mm, Kompensationsocular 12, Tubuslänge 16 cm).

Tafel XI.

Fig. a. »N. 33« Nest von *Osmia rufa* in *Sambucus*, Bau vollendet 2.5; photogr. 18.6. Die Zwischenwände aus Lehm, Excremente, vereinzelte Pilzfäden. Zellgröße regelmäßig abnehmend, geräumiger Vorhof. ♀ ? ♀ ♀ ♂. (Freiburg.) Nat. Größe.

Fig. b. Dasselbe. »N. 37«. Phot. 22.6; wurde vollendet 13.5. Vorhof, Größe der Zellen. ♀ ♀ ♂ ♂ ♂. (Freiburg.) Nat. Größe.

Fig. c. Nest von *Osmia latreilli*. Phot. 24.6. Vorhof, Größe der Zellen, Futtermenge (!). Zwischenwände aus zerkauten Pflanzenteilen; überwintert als Larve; Geschlecht war im folgenden Juni noch nicht zu bestimmen. (Freiburg.) Nat. Größe.

Fig. d. Unregelmäßiger Nestbau von *O. latreilli*. Unvollendete Zellen; Nachlassen der Brutversorgungsenergie? (Freiburg.) Nat. Größe.

Fig. e. *Osmia cornuta*-Nest, nur Spuren von Futter, trotzdem regelrechter Verschlußpfropfen. Nachlassen von Brutversorgungsenergie? (Freiburg.) Nat. Größe.

Fig. f. Dasselbe. Einzellig, großer Vorhof. Zwischenwände aus Gartenerde; ♂ (Freiburg.) Nat. Größe.

Fig. g. »Abgüsse« von *Antophora parietina*-Zellen = Zellen von eingemieteten *Megachile ericetorum* (Kaiserstuhl). Größe: 2/1.

Fig. h. *Anthophora parietina*-Zelle, in der *Osmia* zwei Zellen eingerichtet, unten weiblicher Kokon, oben männlicher (Straßburg). Nat. Größe.

Fig. i. Nymphen von *Chalicodoma muraria* ♂ ♂ ♀ ♀. Größe 2/1. (Auspigmentierung der ♂ ♂ weiter fortgeschritten als die der ♀ ♀ [Augen]. Erste Anzeichen der Proterandrie. Größe 2/1.)

Fig. k. Kokons von *Chalicodoma* ♂ ♂ ♀ ♀. Nat. Größe.

Fig. l. Nester von *Chalicodoma muraria.* (Hartheim a. Rh.) Etwa nat. Größe.

Fig. m. *Osmia cornuta.* Proterandrie, Auspigmentierungsprozeß, regelmäßige Größenabnahme. ♀ ♀ ♂ = jüngstes der drei. Größe 2/1.

Fig. n. *Osmia cornuta.* Ganz junge Nymphen, Größenunterschiede von ♂ u. ♀, Nymphenhäutchen. Größe 2/1.

Fig. o. *Osmia cornuta.* Ex. 72 d, s. u. Tab. 14 und Kap.: Morphologie des Hodens.

Fig. p. Dasselbe. Ex. 80 a, s. u. Tab. 14 und Kap.: Morphologie des Hodens.

Tafel XII.

Periode der Spermatogonienteilungen.

Fig. 1—2. Vor den Spermatogonienteilungen:

Fig. 1. Sublimat-Eisessig, Hämatoxylin n. Heidenhain.

Fig. 2. Sublimat-Eisenhämatoxylin, »tief« angeschnitten. Der dunkle Fleck ist über dem Kern.

Fig. 3—8. Spermatogonienteilungen:

Fig. 3. Die Zellen einer (mehr tangential angeschnittenen) Spermatocyste, sich zur Teilung anschickend. Flemming-Hämatein.

Fig. 4. Sublimat-Eisenhämatoxylin, Äquatorialplatte von der Seite. Einzelzelle einer Rosette, am centralen, verengerten Zellende ein Spindelrestkörper. Das eine Spindelende ist länger ausgezogen.

Fig. 5. Sublimat-Eisenhämatoxylin. Äquatorialplatte vom Pol aus gesehen.

Fig. 6. Flemming-Hämatein. Äquatorialplatte vom Pol aus gesehen.

Fig. 7. Flemming-Hämatein. Äquatorialplatte vom Pol aus gesehen.

Fig. 8. Flemming-Hämatein. Tochterplatten.

Wachtsumsperiode.

Fig. 9. Sublimat-Eisenhämatoxylin. Ganz junge Zelle kurz nach der letzten Spermatogonienteilung. Chromosomengestalt! Chromatoider Körper.

Fig. 10. Sublimat-Hämatoxylin (Delafield). Pikrocarmin, Spindelrestkörper.

Fig. 11. Sublimat-Hämatoxylin, Pikrocarmin. Chromatoider Körper.

Fig. 12. Hermann-Eisenhämatoxylin.

Fig. 13. Flemming-Hämatein. Aufbau der Chromosomen (?).

Fig. 14. Sublimat-Eisenhämatoxylin. Kurz vor der Reifezone.

Fig. 15. Hermann-Eisenhämatoxylin, Lichtgrün. Struktur der Chromosomen, Bläschen. Die Strahlung setzt ein am einen Pol.

Fig. 16. Hermann-Eisenhämatoxylin, Lichtgrün. »Tief« angeschnitten, Zelle mitten aus der Reifezone, Spindelrestkörper.

Die Reifezone.

Fig. 17—31. Die Veränderung der Chromosomen unmittelbar vor der Teilung:

Fig. 17. Sublimat-Eisenhämatoxylin. Verschiedene Verkürzungsstadien der Chromosomen.

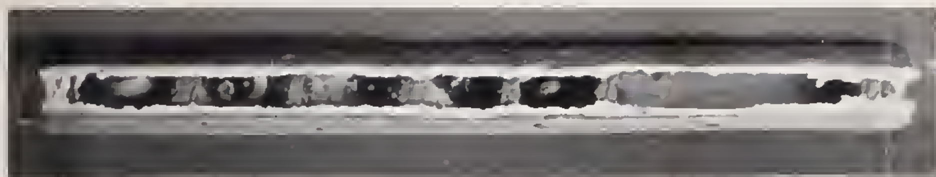


Fig. a

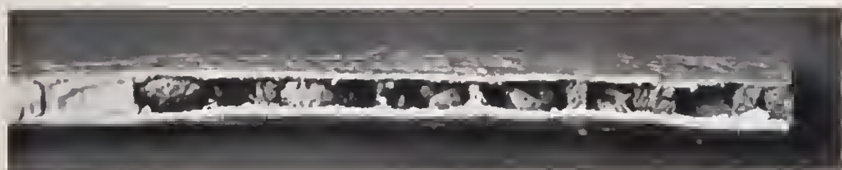


Fig. b

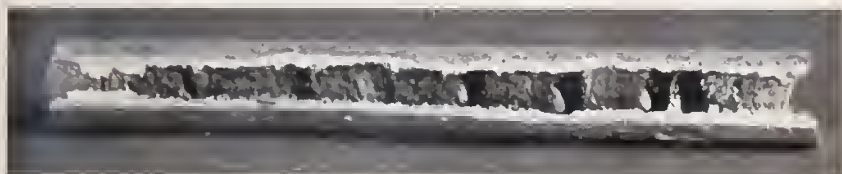


Fig. c

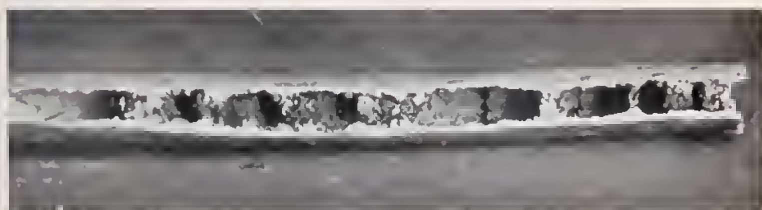


Fig. d



Fig. e



Fig. f

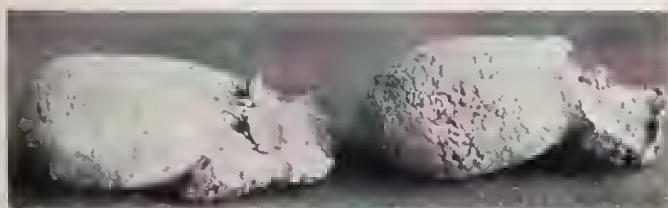


Fig. g

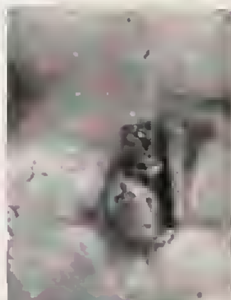


Fig. h



Fig. i

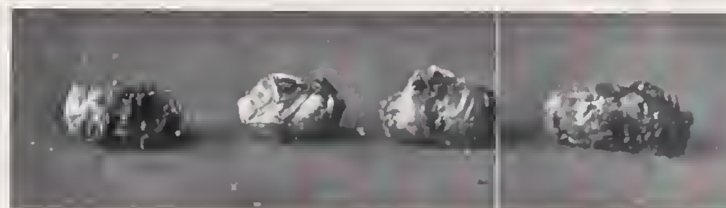


Fig. k

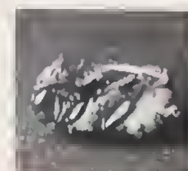


Fig. o

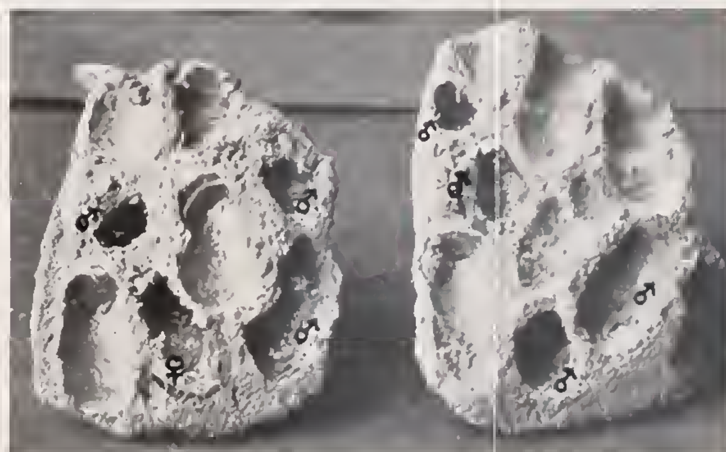


Fig. l



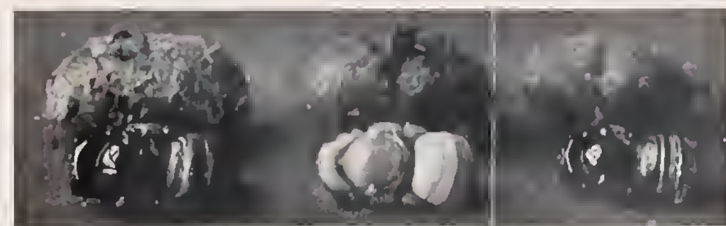


Fig. m

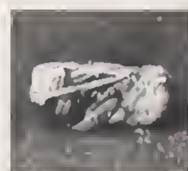


Fig. p

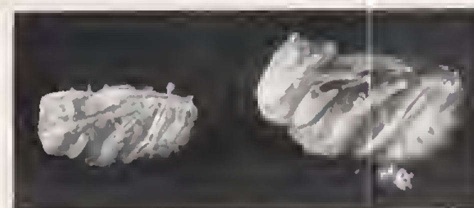
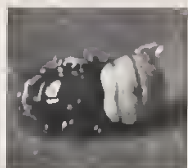
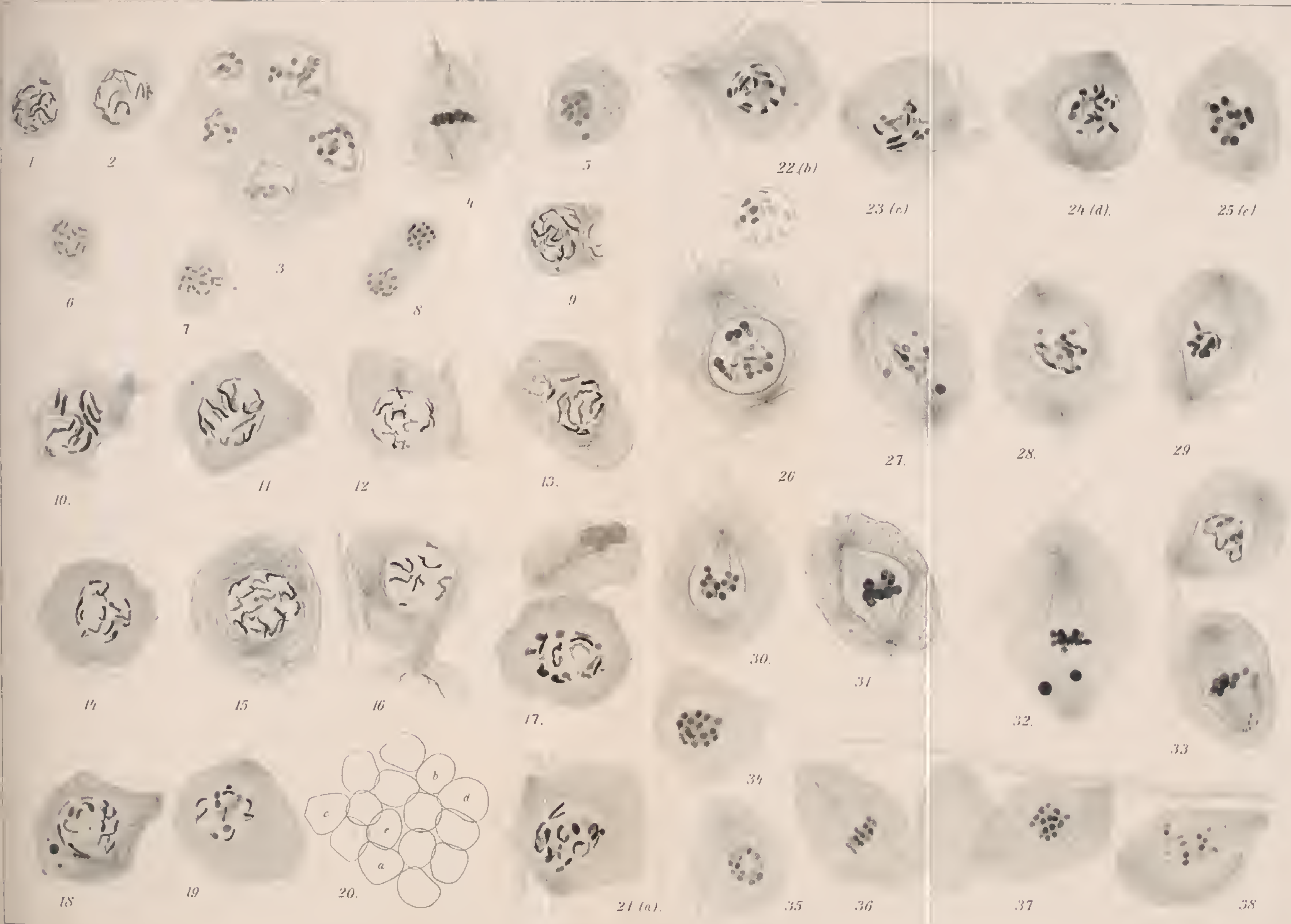


Fig. n

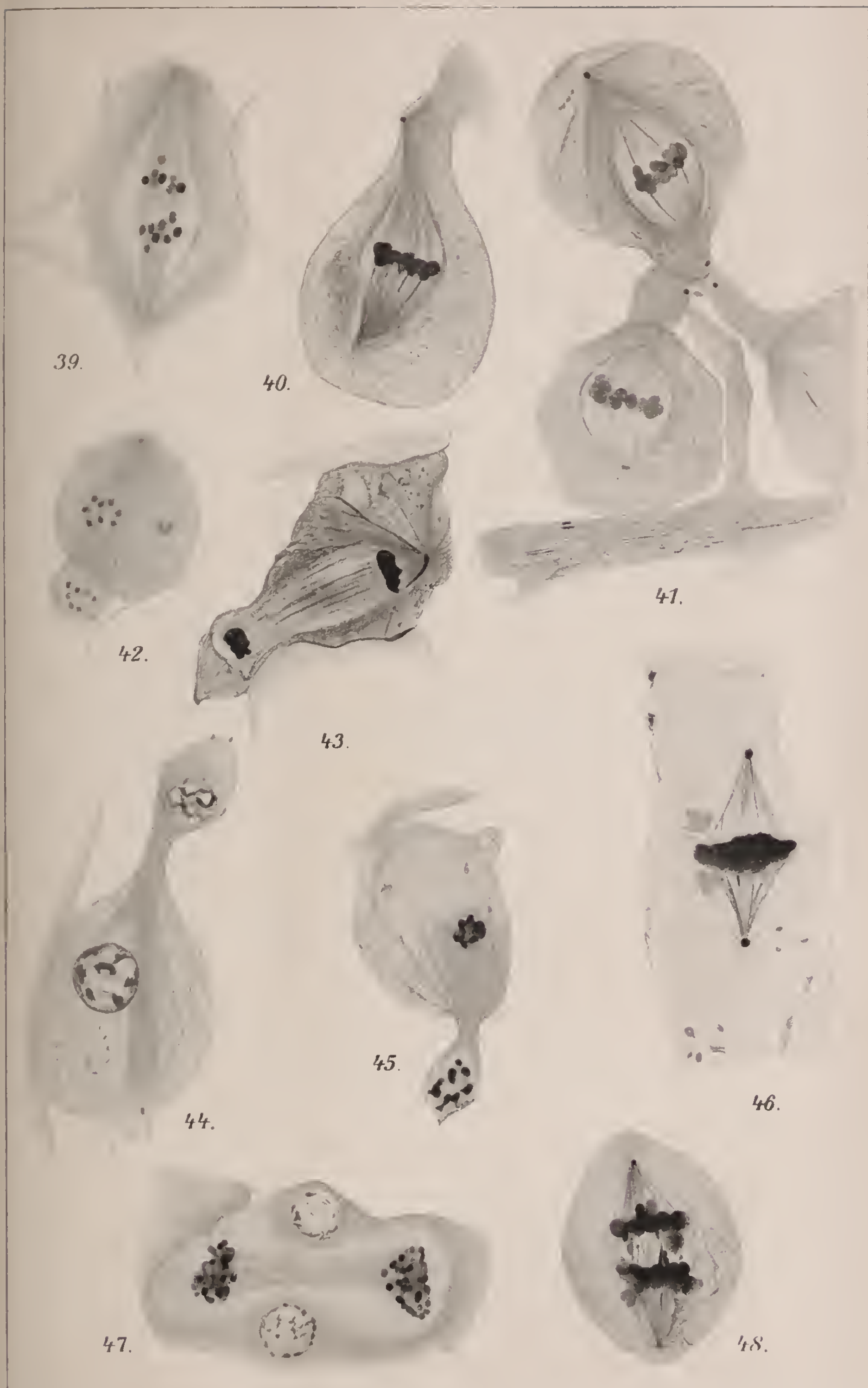


Armbruster phot

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin.



Armbruster gez. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.



Armbruster gez. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Fig. 18. Sublimat-Eisenhämatoxylin, Bordeauxrot, dasselbe. Chromatoide Körper, Polstrahlung.

Fig. 19. Sublimat-Hämatoxylin, Pikrocarmin. Verschiedene Verkürzungsstadien der Chromosomen. Die schwach färbbare Masse im Kerninnern.

Fig. 20—25. Zellen einer Spermatocyste (s. Text). Sublimat-Hämatoxylin-Pikrocarmin: Verkürzungsstadien der Chromosomen. Chromosomenpaare? (s. Text). Vereinzelt: Chromatoide Körper, Polstrahlungen:

Fig. 20. Lageplan (schwächere Vergrößerung).

Fig. 22 unten: Chromosomen bei tiefer Einstellung, die höher gelegenen Chromosomen sind in diesem Falle heller gehalten.

Fig. 25. Aufstellung der Äquatorialplatte. Kern wahrscheinlich oben etwas angeschnitten.

Fig. 26—31. Die Umwandlung der Chromosomen bei andern Fixierungen. Kernmembran, Polstrahlungen, Bläschen:

Fig. 26. Hermann-Eisenhämatoxylin-Lichtgrün.

Fig. 27. Flemming-Eisenhämatoxylin-Lichtgrün, chromatoider Körper.

Fig. 28 u. 29. Dasselbe.

Fig. 30. Hermann-Eisenhämatoxylin, Chromosomen in der endgültigen Gestalt. Kernfasern an den beiden Polen verschieden ausgebildet, unten vielleicht etwas angeschnitten.

Fig. 31. Dasselbe.

Fig. 32—36. Äquatorialplatten:

Fig. 32 u. 33. Unten chromatoide Körper.

Fig. 32. Flemming-Eisenhämatoxylin-Lichtgrün; unten etwas angeschnitten.

Fig. 33. Flemming-Hämatoxylin. Zwei Nachbarzellen mit den beiden Chromosomgestalten.

Fig. 34. Flemming-Hämatein. Polansicht.

Fig. 35. Flemming-Hämatein. Die Zelle, nicht der Kern, oben etwas angeschnitten.

Fig. 36—39. Flemming-Hämatein:

Fig. 36—38. Hodenausgang rechts.

Fig. 36. Deutliche Chromosomenpaarung.

Tafel XIII.

Fig. 37, 38, 39. Beginnende Anaphasen.

Fig. 40 u. 41. Hermann-Eisenhämatoxylin-Lichtgrün. Plasma-Vorbuchtung, Polstrahlung, Kernfasern. Follikellappen, Spindelrestkörper? Kernmembran.

Fig. 42. Flemming-Hämatein. Tochterplatten. Die Kugelgestalt der Chromosomen wird etwas undeutlich.

Fig. 43. Hermann-Eisenhämatoxylin-Lichtgrün. Telophase; Polstrahlung, Kernmembran. Lichtbrechung bei Hermann-Fixierung.

Fig. 44. Hermann-Eisenhämatoxylin-Lichtgrün. Lostrennung der kernhaltigen Knospe, »Ruhekerne«, Kernplasmarelation, Centriolen-»Zellplatte« = knötchenförmige Verdickung der Zwischenfasern, Bläschen. Mitochondrien, Degeneration des Knotenkerns?

Fig. 45. Sublimat-Hämatoxylin-Pikrocarmin. Dasselbe.

Somatische Mitosen.

Fig. 46 u. 48. Sublimat-Eisenhämatoxylin. Chromatinreichtum (stark differenziert !). Polstrahlung.

Fig. 47. Flemming-Hämatein. Zelle aus Follikelzellen des Hodens, »hoch« erheblich angeschnitten; Chromosomengestalt.

Tabellen.

Osmia cornuta Latr. Tab. 1.

Bezeichnung	Zellen (n. d Alter gezählt) 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Bemerkungen
1	♀	♂													Popovici 1909 p. 21
2	♀	♀													" "
3	♀	♀	♂												" "
4	♀	♀	♀												" "
5	♀	♀	♀	♂											" p. 22
6	♀	♀	♀	♀											" "
7	♀	♀	♀	♂											" "
8	♀	♀	♂	♂	♂										" "
9	♀	♀	♀	♂	♂	♂									" "
10	♀	♀	♀	♂	♂	♂									" "
11	♀	♀	♀	♀	♂	♂	♂								" "
12	♀	♀	♀	♀	♀	♂	♂	♂.				$\frac{♂}{♀} = \frac{19}{34}$.			" "
13	♀	—													" "
14	—	♀	♂												" "
15	—	♂	♂	—											" "
16	—	—	—	—	♀	♀									" "
17	—	♀	—	♂	♂	♂	♂								" "
18	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	—							" "
19	♀	♀	♂	♀	♀	♂						$\frac{♂}{♀} = \frac{16}{9}$			" p. 23

Osmia rufa I. Tab. 2.

Bezeichnung	Zellen (n. d. Alter gezählt)										Bemerkungen
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
20	♂										Popovici 1910 p. 19
21	♂										" "
22	♂										" "
23	♂										" "
24	♂										" "
25	♂										" "
26	♂										" "
27	♂										" "
28	♀										" "
29	♀										" "
30	♀										" "
31	♀										" "
32	♀										" "
33	♂	♂									" "
34	♂	♂									" "
35	♂	♂									" "
36	♂	♂									" "
37	♀	♀									" "
38	♀	♂									" "
39	♀	♂									" "
40	♀	♂									" "
41	♀	♂									" "
42	♀	♂									" "
43	♂	♂	♂								" "
44	♂	♂	♂								" "
45	♀	♂	♂								" "
46	♀	♀	♀	♂							" "
47	♀	♂	♂	♂							" "
48	♀	♀	♀	♂						$\frac{♂}{♀} = \frac{34}{20}$	" "

Osmia rufa II (Fortsetzung). Tab. 3.

Bezeichnung	Zellen (n. d. Alter gezählt)													Bemerkungen
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
49	♀	♀	♀	♂	♂									Popovici 1909 p. 20
50	♀	♀	♂	♂	♂									” ”
51	♀	♂	♂	♂	♂									” ”
52	♀	♀	♂	♂	♂	♂								” ”
53	♀	♀	♀	♂	♂	♂								” ”
54	♀	♂	♂	♂	♂	♂								” ”
55	♀	♀	♀	♂	♂	♂	♂							” ”
56	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♂							Popov. 1910 p. 225
57	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♂							” ”
58	♀	♀	♀	♀	♀	♂	♂	♂					$\frac{♂}{♀} = \frac{40}{54}$	Popov. 1909 p. 20
59	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♂	♂	♂				” ”
60	♀	♀	♀	♀	♀	♂	♂	♂	♂	♂				” ”
61	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♂	♂		Popov. 1910 p. 225
62	—	♂												Popov. 1910 p. 225
63	♂	♂	—											” ”
64	♀	—	—											” ”
65	♂	♂	—											” ”
66	—	♂	♂											” ”
67	♀	—	—	♂										” ”
68	♀	♀	♀	—										” ”
69	—	♂	♂	—										” ”
70	—	♂	♂	♂										” ”
71	♂	♂	—	♂	♂									” ”
72	♀	♂	—	—	♂									” ”
73	—	♀	♂	♂	♂									” ”
74	—	♀	♂	—	—									” ”
75	—	♀	♂	—	♂									” ”
76	♀	—	♂	♂	—									” ”
77	♀	—	♀	♂	♂								$\frac{♂}{♀} = \frac{30}{15}$	” ”
78	♀	—	♀	♀	♂									” ”

›—‹ bedeutet: ›die Zelle enthielt nur Futter oder tote Larven.

Osmia rufa III (Fortsetzung). Tab. 4.

Bezeichnung	Zellen (n. d. Alter gezählt)																	Bemerkungen
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16		
79	♂	♂	♂	—	—													Popovici 1909 p. 21
80	♂	—	♂	♂	♂													„ „
81	♀	♀	♀	♀	—	—	—											„ „
82	♀	♀	♀	♀	♂	♂	—										♂/♀ = 41/18	„ „
83	♀	♂	—	♂	♂	♂	♂	♂										„ „
84	♀	♀	—	—	♀	♂	♂	♂	♂	♂								„ „
85	♀	♀	—	♀	♀	♀	—	♂	♂	—	♂							„ „
86	♀	♂	—	—	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	—						„ „
87	♂	—	—	♂	♂	♂	♂	♂	—	♂	♂	♂	♂					„ „
88	—	♂	—	♂	♂													Den Zellen wurde ein Teil ihrer Futtermenge entnommen. „—“ = tote Larve oder Puppe. Experiment z. Z. des Larvenstadiums Popovici 1910 p. 225
89	♀	—	♀	—	—	♂												
90	—	♀	♂	♂	♂	♂											♂/♀ = 26/32	
91	—	♀	♀	—	♂	♂												
92	♀	—	—	—	♀	—	—	♀										
93!	♀	♀	♀	♀	♂	♀	♂	—										
94	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♂	♂										
95!	♀	♀	♀	♀	♀	♂	♂	♂	♂	♀	♂	♂						
96	♀	♀	♀	♀	—	—	♀	♀	—	♂	♂	♂	♂	—	♂	♂		
97!	♀	♂	♀	♀	♀	♂												Popov. 1909 p. 23
98!	♀	♂	♀	♂	♂	♂	♂	♂	♂								♂/♀ = 19/15	„ „
99!	—	♀	♂	♀	♀	♂	♂	♂	♀									„ „
100!	♀	♀	♀	♀	♂	♂	♂	♂	♂	♀	♂							„ „
101!	♂	♀																„ „
102!	♂	♂	♂	♂	♀	—											♂/♀ = 10/3	„ „
103!	♂	♂	♂	♂	♂	—	♀											„ „
104	♀	♀	♀	♀	♀	♀												Popov. 1910 p. 225
105	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂								Popov. 1909 p. 24
106	♀	?	♀	♀	♂													„N. 33“ selbstgezog. in Sambucus
107	♀	♀	♂	♂	♂													„N. 37“

Osmia adunca. Tab. 5.

Bezeichnung	Zellen (n. d. Alter gezählt)												Bemerkungen
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
108	♀	♂											Popovici 1909 p. 22
109	♀	♀	♂										,, ,,
110	♀	♀	♂										,, ,,
111	♂	♂	♂										,, ,,
112	♀	♂	♂										,, ,,
113	♀	♀	♂	♂									,, ,,
114	♂	♂	♂	♂	♂								,, ,,
115	♀	♂	♂	♂	♂								,, ,,
116	♀	♀	♂	♂	♂	♂							,, ,,
117	♀	♀	♂	♂	♂	♂							,, ,,
118	♀	♀	♂	♂	♂	♂							,, ,,
119	—	♀	♂										Popov. 1909 p. 22
120	—	♀	♀										,, ,,
121	♀	—	♀										,, ,,
122	♀	—	♂										,, p. 23
123	♀	—	—	♂									,, ,,
124	♀	—	♀	♂									,, ,,
125	♀	♀	♂	♂	—								,, ,,
126	—	♀	♂	♂	♂								,, ,,
127	—	♀	♀	♀	♂	♂							,, ,,
128	—	♀	♀	♀	♂	♂							,, ,,
129	♀	♀	♀	♀	—	—	♂						,, ,,
130	—	♂	♀										Popov. 1909 p. 23
131 !	♂	♀	♂										,, ,,
132 !	♂	♂	♀	♂									,, ,,
133	♀	♀	♂	♂	—	♀							,, ,,

»Osmia tridentata«. Tab. 6.

Bezeichnung	Zellen (n. d. Alter gezählt) 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Bemerkungen
134	♀	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♂	♀	♀	♀	♀	♂	♀	♂	wohl vollständige Gelege nach Fabre p. 366
135	♀	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♀	♀	♀	♂	♀			p. 368
136	♀	♂	♀	♀	♀	♂	♀	♀	♂	♀	♂					„
137	?♂	♂	♀	♂	♂	♂	♂	♂	?							p. 368
138	?♂	♂	♀	♂	♀	♂	♂	♂	?							wohl unvollständige Gelege nach Fabre (III² 1909 p. 368) „
139	?♀	♂	♀	♀	♂	♂	?									„
140	?♂	♂	♂	♀	♂	?										„
141	?♀	♀	♀	♀	?											„
142	?♂	♂		♂	?								$\frac{♂}{♀} = \frac{38}{37}$			„
143	?♀	♂	?													„
	analog die übrigen Nester, im ganzen etwa 40 (Fabre 1890 III² p. 366) unter diesem Gesichtspunkt in einem Winter gesammelt und beobachtet.															
	»Osmia tridentata Dufour«															
144	♀	♀	♂	♂	♂											Verhoeff 1892 b p. 362
145	♀	♀	♀	♂	♂	♂	♂									„ „

Osmia detrita Per. Tab. 7

Bezeichnung	Zellen (n. d. Alter gezählt) 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Bemerkungen
146	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♂	♂	♂	♂	♂	»?« = vermutl. Lücke Fabre III² p. 369
147	?♀	♀	♀	♂	♂	♂	♂	♂	♂				„ „
148	♀	♀	♀	♀	♀	♂	♂	♂	?				„ p. 370
149	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♂	?				„ „
150	?♀	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂				$\frac{♂}{♀} = \frac{23}{29}$	„ „
151	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♂	?					„ „

Osmia parvula Duf. Tab. 8.

Bezeichnung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
152	♀	♀	♀	♀	♀	♂	♂	♂	♂										
153	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂
	Nr. 152 nach Fabre III² p. 369f Nr. 153 nach Höppner 1904 II p. 133																		

Osmia rubicola Friese. Tab. 9.

Bezeichnung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		Bemerkungen
154	♀	—	♂	—	♂	♂	♂	♂	♂	♂		2 cm frei	Friese 1891
155	—	—	—	♂	—	♂	♂	♂	♂	♂	♂	2 cm frei	»einzelne Nester liefern oft nur ein Geschlecht«
156	♀	♀	♀	♀	♀	♀						$\frac{♂}{♀} = \frac{14}{7}$	

Tab. 10.

Gelege eines *Osmia tricornis* ♀ verteilt auf 5 Glastuben. FABRE III[2] p. 394

Bezeichnung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	Bemerkungen
157	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♂																		1.—10. Mai
158									♀	♀	♀	♂	♂	♂												10.—17. Mai
159															♀	♀	♀	♂	♂							17.—25. Mai
160																				♀						26. Mai Glastube sehr weit
161																					♀	♀	♂	♂	♂	26.—30. Mai
	♂:♀ = 9:16																									

Tab. 11.

Vollständige Gelege von je 1 *Osmia tricornis* ♀ jeweils verteilt auf mehrere enge Schneckenschalen *(Helix caespitum)*.

Bezeichnung	Zellen (n. d. Alter gezählt)																										Zahl der Schneckenschalen	Legezeit
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26		
162	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♀	♂	♂	♂	♂	♂	♀	♂													7	6.—25. Mai
163	♂	♂	♀	♀	♀	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂														6	9.—27. Mai
164	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♀	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	13	2.—29. Mai

Beispiele herausgegriffen aus einer Versuchsreihe mit 78 Schneckenschalen

FABRE III[2] 1890 p. 413 ff.

Tab 2.

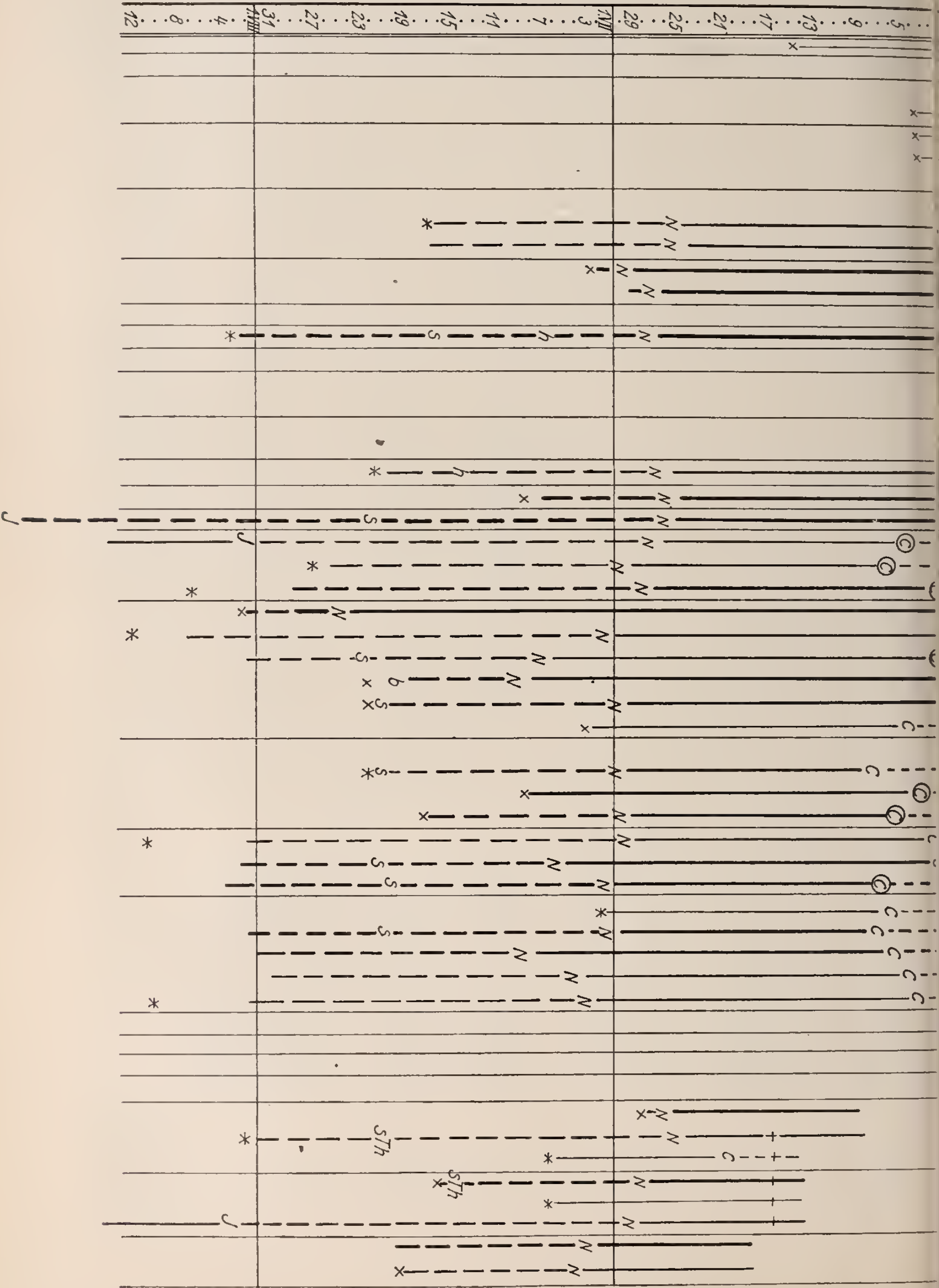
Bezeichnung der Nester	Species	Zellen (n. d. Alter gezählt) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12	Bemerkung
	Prosopis Kriechbaumeri	1. Rubus mit nur ♂ 2. „ „ „ ♀ 3. Zwitterbauten zuerst ♀ dann ♂	Höppner 190 C. Verhoeff
165	*Prosopis brevicornis* Nyl.	♀ ♂	1
	Osmia rubicola Friese	»einzelne Nester liefern nur ein Geschlecht.«	Friese 1891 (ähnlich Pér
166	*Megachile ericetorum* (Lehm.)	♀ ♂ (♂ Zellinhalt etwas kleiner)	Höppner 1899
Sphegidae			
167	*Psen atratus* (Rubus)	♀ ♀ ♀ ♀ ♀ ♀ ♀ ♀	Fabre III^2 18
168		♀ ♀ ♀ ♀ ♀ ♀	p.
169		♂ ♂ ♂ ♂ ♂ ♂ ♂ ♂	
170	*Solenius vagus* (Rubus)	♀ ♀ ♀ ♀ ♂	Fabre III^2 18
171		♀ ♀ ♀ ♂ ♂	p.
172	*Trypoxylon figulus* L.	♀ ♂ ♂ ♂	C. Verhoeff 1
173	*Crabro capitosus* Shnk. Olb. (Rubus)	♀ ♀ ♀ ♀ ♀ der leere Gang bis zur Flugöffnung mißt 41 cm!	C. Verhoeff p. 718 Fig. 1
174		♀ ♂ ♂	
175	*Crabro sambucicola* Vh. den Umständen nach das ganze Gelege eines ♀	♀ ♀ ♀ ♀(?) ♂ ♂	C. Verhoeff
176		♂ ♂ ♂ ♂	p.
177		♀ ♂ ♀ ♂ ♂	„ 1892^b 6
178	wahrscheinl. das Gelege eines ♀	♀ ♀ ♀ ♀ ♀ (Bau 19—20 cm)	
179		(Bau 10 cm) ♀ ♂ ♀ ♂ ♂	„ p. 7
180		(Bau 7 cm) ♂ ♂ ♂ ♂	
	Rhopalum clavipes L.	rein männl., rein weibl. u. gem. Bauten	„ p. 7 Fig.
	Grabwespen i. a.	rein männl., rein weibl. u. gem. Bauten	„ p. 7
181	*Cheverieria unicolor* Pz.	♀ ♀ ♀ ♂ ♂ ♂ ♂ ♂ ♂	„ 1892^b 6
182		♀ ♀ ♀ ♂ ♂ ♂ ♂ ♂ ♂	„
183	*Ephialtes divinator* Rossi	♀ ♀ ♀ ♀ ♂ ♂	

Zusammengesetzte Nester. Tab. 13.

Bezeichnung der Nester	Species	Zellen (n. d. Alter gezählt!) 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	Bemerkungen
184	*Osmia cornuta* Latr.	♂	♂																			Popovici 1909 p. 16
	Osmia rufa L.			♂	♂	♂	♂	♂														
185	*Osmia cornuta* Latr.		—	♀																		"
	Osmia rufa L.	♀			♂	♂																
186	*Osmia cornuta* Latr.							♀														"
	Osmia rufa L.	♀	♀	♀	♀	♀	♀															
187	*Osmia leucomelaena* K.	♀	♀	♀	♀	♀	♂	♂		♂												Höppner 1904 p. 133
	Stelis ornatula Nyl.								♀		♂	{den Entwicklungsdaten nach wohl von einem *Stelis* ♀										
188	*Osmia leucomelaena* K.	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♂		♂										" p. 134
	Stelis ornatula Nyl.										♀		♂ wohl von einem *Stelis* ♀									
189	*Osmia leucomelaena* K.					♂																" "
	Stelis ornatula Nyl.	♀	♀	♂	♂																	
190	*Osmia leucomelaena* K.	♀						♀														" p. 168
	Stelis ornatula Nyl.		♀	♀	♀	♀	♀															
	Eurytoma rubicola Gir.								♀	{Eiablage in den Wirt bei noch offener Wirtszelle (Höppner-Verhoeff)												
							in *Stelis*-Kokon															
191	*Osmia leucomelaena* K.	♀	♀			♂	♂															" "
	Stelis ornaluta Nyl.			♀	♂																	
	Eurytoma rubicola Gir.							♀ in *Osmia*-Kokon														

Tab. 13b.

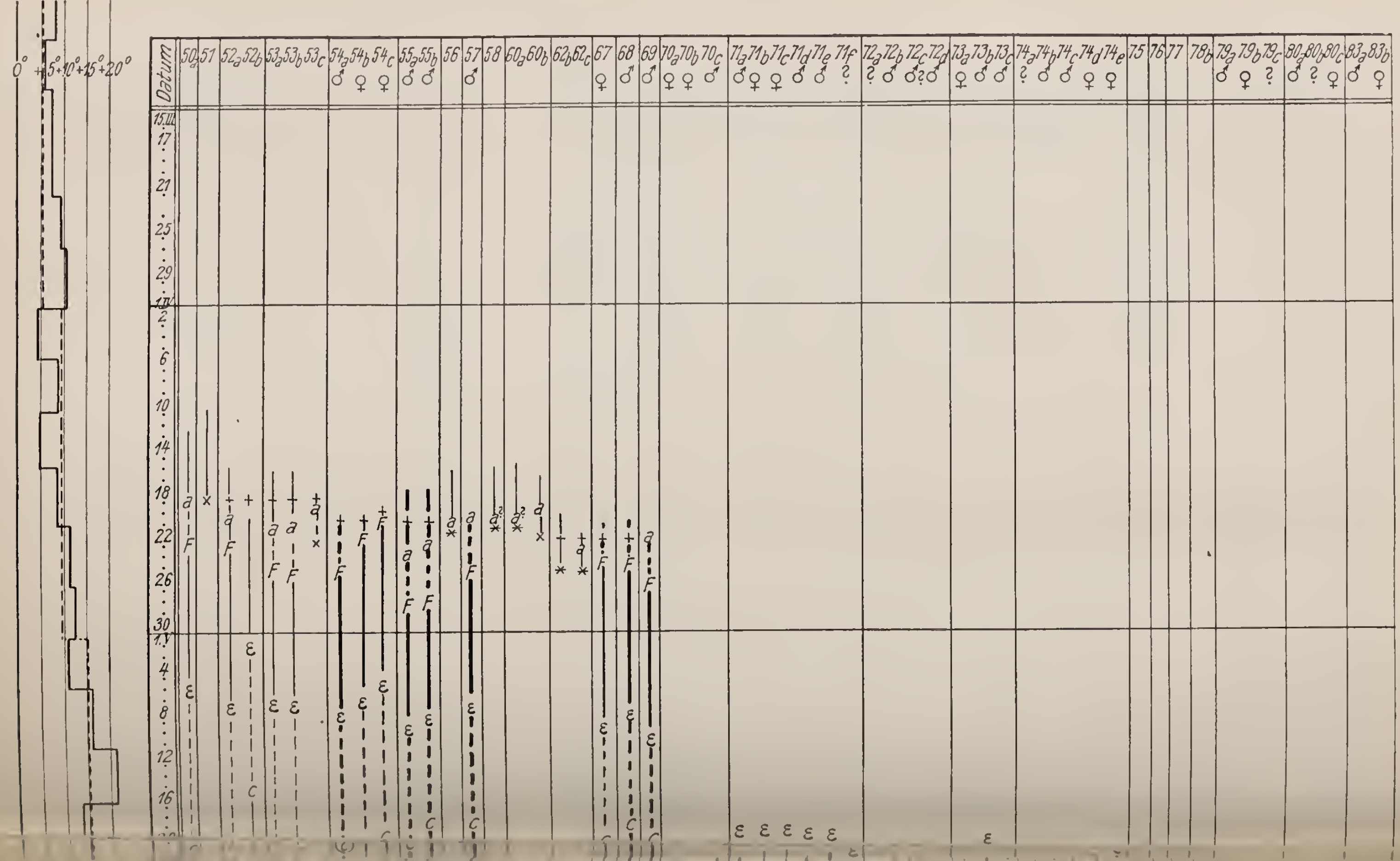
Bezeichnung der Nester	Species	Zellen (n. d. Alter gezählt!) 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	Bemerkungen
192	*Osmia leucomelaena* K.	♀		—							—		—									Höppner 1904 p.169
	Trypoxylon figulus L.			—							—	♂	—									
	Eurytoma rubicola Gir.		♀	—	♀	♀	♀	♀	♀	♀	—		—	♀	♂	♂						
193	*Osmia leucomelaena* K.	♀	♀	♀	♀	♀	♀	—	—	—	—	—				♂			♂			„ 1903 p.199
	Caenocryptus bimaculatus Gro.							—	—	—	—	—	♀	♀	♀		♂	♂		♂		
194!	*Osmia leucomelaena* K.	—	?		♀		♀	♀		♂		♀	♂									„ 1904 p.133
	Stelis ornatula Nyl.			♀		♀			♂		?			♂	?							
195	*Prosopis rinki* Gorsky	?	?			?																„ 1904 p.102
	Gasteruption assectator F.			♀	♀		♀	♀	♀	♀												
		ferner vier Nester, zwittrig hinsichtl. des *Gasteruption*																				
196	*Prosopis annularis* K.	♂																				„ „
	Gasteruption assectator F.		♀	♂	♀	♀																
197	*Prosopis kriechbaumeri* Förster	—			♂	♂																„ „
	Gasteruption assectator F.		♀	♂																		
198	*Prosopis kriechbaumeri* Förster	—		♀		♂																„ „
	Gasteruption F.		♀		♂																	
199	*Prosopis kriechbaumeri* Förster			♂	♂	♂																„ „
	Gasteruption F.	♀	♂																			
200	*Trypoxylon figulus* L.	—																				„ 1904 p.169
	Eurytoma rubicola Gir.		♀	♀	♀	♂	♀															



Armbruster.

Verlag von Wilhelm E[...]

Übersicht über die Entwicklung von Osmia cornuta Latr.



Leipzig und Berlin.

L' apparato mitocondriale nelle cellule nervose adulte.

Per

Busacca Archimede

Interno.

(Dall' Istituto di Anatomia umana normale della R. Università di Palermo, diretto dal Prof. R. Versari.)

Con 23 Figure nel Testo.

Scopo delle ricerche che formano l'oggetto della presente nota[1]) è stato quello di stabilire se nelle cellule nervose adulte esista un apparato mitocondriale. È questa infatti una quistione molto dibattuta, poichè mentre è ormai accertata l'esistenza di un condrioma nelle cellule nervose embrionali, si nega generalmente la esistenza di esso nelle cellule nervose a completo sviluppo.

Meves (16), in un lavoro pubblicato nel 1908, descriveva un apparato mitocondriale, rappresentato prevalentemente da condrioconti, nei neuroblasti di embrioni di pollo. Egli considerava tali condrioconti come neurofibrille primitive che nello stadio giovanile danno la reazione dei condriosomi: col progredire dello sviluppo si trasformavano in vere neurofibrille che si potevano mettere solo in evidenza coi metodi specifici per queste (Cajal ecc.), dopo essere però passati per uno stadio in cui si potevano mettere in evidenza e col metodo pei mitocondri, e col metodo Cajal. L'autore non si pronunzia sull'esistenza o meno di condriosomi nelle cellule nervose a completo sviluppo; ma dice che considerando le figure 2 e 4 (Tav. 20) del lavoro di von Bergen (1904) — figure che rappresentano due cellule dei gangli spinali di un animale adulto nelle quali è rivelabile un apparato reticolare — gli sembra molto verosimile che l'apparato reticolare di queste cellule consti di condrioconti rimasti indifferenziati.

Già prima del Meves, il Benda (2) aveva negato nelle cellule nervose adulte l'esistenza di un condrioma.

[1]) Le conclusioni principali di questo lavoro sono state riassunte in una breve nota (3) pubblicata nell' Anatomischer Anzeiger. Bd. XLII. 1912.

Nel 1910 Hoven (8) riprese tali ricerche; egli confermò pienamente i reperti e le vedute di Meves, aggiungendo però che «certains chondriocontes persistent dans la cellule nerveuse adulte, sous forme de granulations, de bâtonnets orientés autour du noyau. Ils correspondent probablement aux éléments observés dans les cellules ganglionnaires par Golgi (apparato reticolare), Kopsch (Binnennetz) ecc.»

Duesberg (1910) (6) è della stessa opinione di Meves e Hoven; ma fa inoltre notare, parlando dei neuroblasti, che «plus tard (chez l'adulte) il ne reste pas dans la fibre nerveuse d'éléments colorables par la méthode de Benda».

Levi (1911) (12) ha continuato le osservazioni su embrioni di pollo, venendo alla conclusione che i condriosomi dei neuroblasti non prendono parte alcuna nella formazione delle neurofibrille, e che negli stadii embrionali, in cui coesistono neurofibrille e condrioconti, questi si trovano interposti tra neurofibrilla e neurofibrilla. Quest'A. inoltre è riuscito a dimostrare che i condriosomi persistono nei neuroblasti in fasi di sviluppo molto inoltrate, dove sono in forma di filamenti sottili, brevi e compatti che occupano tutto il corpo cellulare. Riguardo poi alle cellule nervose adulte, il Levi conferma le osservazioni fatte da Benda, e aggiunge che sebbene non possieda dati precisi sul destino dei condriosomi in tali cellule, non può ammettere, dati gli studii di Golgi e della sua scuola, l'ipotesi di Hoven e Meves, e cioè che essi siano qui rappresentati dall' apparato reticolare.

Nageotte (17) nel 1909, descriveva l'esistenza di corpi lipoidi, rivelabili anche con i metodi per i mitocondri, e che quindi egli considera come tali, in tutti gli elementi costituenti il sistema nervoso centrale di coniglio adulto (cellule, dendriti, neuriti, guaine mieliniche, ependima, nevroglia). Il suo lavoro non è corredato da figure. Egli dice che i granuli che si trovano nella sostanza nervosa, al di fuori dei neuroni, corrispondono ai neurosomi di Held ed ai bioblasti di Altmann. Per quanto riguarda i bastoncini intracellulari — egli considera i granuli come sezioni traverse di bastoncini — l'A. sostiene che sono sempre di calibro inferiore ai granuli extracellulari, ed ammette una parentela tra essi ed i condriomiti di Benda (condrioconti di Meves); li trova disposti sulle travate tra zolla di Nissl e zolla di Nissl, con decorso generalmente parallelo alle travate; qualche volta in prossimità del nucleo presentano una disposizione molto intricata, però tale disposizione non ricorda mai quella d'un reticolo. Egli potè anche seguirli benissimo sino all'estremità dei prolungamenti cellulari dove formano delle lunghe strie parallele.

Laignel Lavastine et Jonnesco (9) (1911) studiarono i mitocondri specialmente nelle cellule del Purkinje a completo sviluppo. Essi con un metodo speciale misero in evidenza nel corpo cellulare delle formazioni mitocondriali che poterono anche seguire col metodo Regaud nei prolungamenti dendritici.

Luna (14) (1911) studiando i lipoidi nelle cellule nervose ha riscontrato negli elementi cellulari del segmento ventrale del midollo spinale di *Lacerta muralis* adulta dei granuli che si colorano intensamente in rosso col Sudan; essi si presentano uniformemente distributi su di un fondo rosso pallido omogeneo, e ricordano le strutture che questo A. ha riscontrato nelle cellule nervose embrionali e che egli considera di natura mitocondriale.

In un lavoro successivo Luna (15) (1913) ha studiato i condriosomi nelle cellule nervose adulte degli anfibii e dei mammiferi, e ne ha seguito lo sviluppo nelle cellule nervose degli anfibii. L'A. ammette che i condriosomi durante lo sviluppo embrionale prendono parte alla formazione delle neurofibrille, e cioè disponendosi in serie regolari vengono a costituire nell' adulto quei tratti delle neurofibrille che si colorano intensamente, con l'ematossilina ferrica (tratti cromofili). Anche Cowdry (5) (1912) ha recentemente studiato i condriosomi nelle cellule nervose adulte.

Di fronte a pareri tanto discordi ho intrapreso delle ricerche sistematiche sul sistema nervoso di individui adulti, limitandole per ora ai soli rettili di cui ho preso in esame la *Testudo Graeca*.

Il metodo più specialmente usato è stato quello di Regaud con le modificazioni consigliate da Luna cioè:

1. Fissazione per 3 giorni in una miscela di bicromato di potassio (soluzione al 3%) cm^3 20, formalina cm^3 4, acido acetico goccie 1—2. Al secondo giorno il liquido viene rinnovato.

2. Cromizzazione per 10 giorni in bicromato al 3%, combiando il liquido ogni tre giorni.

3. Lavaggio in acqua corrente per 24 ore.

4. Inclusione in paraffina.

Le sezioni (4—5 μ) attaccate con liquido di Henneguy vengono tenute per 48 ore in un termostato a 37 gradi; indi vengono sparaffinate e sottoposte a mordenzazione, per 24 ore, in una soluzione di allume di ferro ammoniacale al 4%, ad una temperatura di circa 37 gradi; successivamente colorazione per 24 ore in una soluzione formata da una parte di ematossilina alcoolica al 10%, preparata da 3—4 settimane, e nove parti di acqua.

Breve viraggio in acqua di fonte; differenziazione in una soluzione di allume di ferro al 1%; lavaggio in acqua corrente per circa 30′; serie ascendente degli alcool. xilolo, balsamo.

Oltre a questo metodo ho anche eseguito quello classico del Benda, ritenuto, sebbene a torto, più specifico per la colorazione dei condriosomi. Ma di ciò parlerò in seguito.

Incomincio ora coll'esporre i risultati ottenuti nei varii segmenti del nevrasse di *Testudo graeca*.

Gangli spinali.

Nelle cellule dei gangli spinali i condriosomi si presentano in forma di granuli e di bastoncini. I bastoncini sono generalmente poco lunghi

Fig. 1[1]).



Fig. 2.

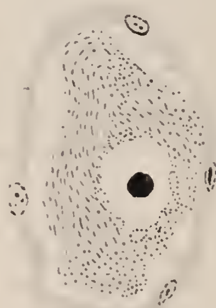


Fig. 3.

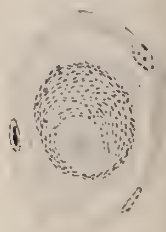


Fig. 1. Grossa cellula dei gangli spinali di *Testudo Graeca*. Ob. 1/12 imm. omog. Oc. 6 comp.
Fig. 2—3. Grosse cellule dei gangli spinali di *Testudo Graeca*. Ingr. come sopra.

e sottili ed assumono con l'ematossilina ferrica una tinta violetto-pallida; i granuli si presentano presso a poco tutti di egual volume, e prendono la stessa tinta dei bastoncini: solo in alcune cellule appaiono più scuri, ma su ciò tornerò in seguito.

L'apparato mitocondriale presenta dei caratteri differenziali secondo che lo si considera nelle cellule grandi o nelle piccole.

Nelle prime mi è stato possibile stabilire i rapporti dei condriosomi con i corpi di Nissl e con le neurofibrille, ed anche il loro comportamento rispetto a quella formazione fibrillare che va sotto il nome di vortice.

---

[1]) Le figure furono disegnate da preparati ottenuti col metodo di Regaud, eseguite per mezzo della camera lucida di Abbe, con una lunghezza del tubo del microscopio di mm 130. Proiezione all'altezza del piano del microscopio.

Potei infatti constatare che i condriosomi, come ha già osservato il Nageotte, si trovano disposti nello strato di protoplasma interposto tra le zolle tigroidi (Fig. 1); essi non penetrano mai all'interno di queste, spesso invece formano attorno alla zolla quasi come delle incrostazioni.

In alcune cellule le neurofibrille sono pallidamente colorate e lungo esse sono disposti i bastoncini mitocondriali. Nello spazio compreso tra le neurofibrille non si trovano mai condriosomi.

In quanto ai rapporti dei condriosomi col vortice dirò che, dove questo si osserva chiaramente, essi seguono l'andamento vorticoso delle neurofibrille (Fig. 3); mancano invece completamente nella parte periferica della cellula dove queste ultime mancano. In sezioni trasversali il vortice assume una forma rotondeggiante che da Lenhossek (10), il



Fig. 4—7. Cellule piccole dei gangli spinali di *Testudo Graeca*. Ingr. come sopra.

quale lo studiò nelle cellule gangliari di rana, fu interpetrato come un centrosoma colla sua sfera centrale. Ma il Levi (11) (1897) potè dimostrare che la presunta centrosfera di Lenhossek non è altro che la sezione trasversa del fascio di fibrille rettilinee che percorre l'asse del vortice. Tale reperto fu poi confermato da altri autori.

Nelle cellule di piccole dimensioni i condriosomi sono molto più abbondanti; hanno forma quasi esclusivamente granulare, (molto raramente infatti si riscontra qualche bastoncino) e appaiono un po' più grossi e più intensamente colorati di quelli delle cellule grandi. Essi formano spesso attorno al nucleo un alone compatto (Fig. 5 e 7); altre volte si riuniscono in mucchietti più o meno cospicui, distributi nel citoplasma (Fig. 4 e 6); nel rimanente di questo riscontriamo poi altri granuli più rari e senza alcuna speciale disposizione. Molto raramente troviamo inoltre che in qualcuna di queste cellule tutti i mitocondri, pur essendo più abbondanti e più intensamente colorati non presentano alcuna disposizione speciale nel citoplasma.

Midollo spinale.

Tutte le cellule sono situate in una sostanza che presenta una struttura trabecolare e che assume coll'ematossilina ferrica una tinta debolissima. Lungo le travate che costituiscono tale sostanza troviamo dei granuli e qualche brevissimo bastoncino mitocondriale, e per lo più distribuiti con una certa uniformità. Qualche volta però essi costituiscono dei mucchietti, e ciò specialmente nei punti nodali delle maglie (Fig. 8). Le travate di sostanza grigia si spingono in vicinanza del corpo cellulare, sino quasi a mettersi in contatto con esso, e qualche volta si osserva che i condriosomi formano attorno alla cellula un alone compatto. Anche nella sostanza bianca troviamo una eguale disposizione di granuli: qui

Fig. 8.

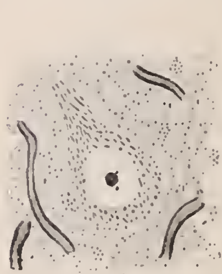


Fig. 9.



Fig. 10.



Fig. 11.



Fig. 8. Sostanza grigia e grossa cellula del midollo spinale di *Testudo Graeca*. Ingr. come sopra. Fig. 9. Grossa cellula del midollo spinale di *Testudo Graeca*. Ingr. come sopra. Fig. 10—11. Cellule con scarso protoplasma del midollo spinale di *Testudo Graeca*. Ingr. come sopra.

però essi sono molto meno abbondanti. Dirò incidentalmente che in tutti i segmenti del nevrasse si ha una sottile zona di sostanza nervosa, in rapporto colle meningi, con struttura nettamente trabecolare, e ricca di granuli mitocondriali.

Le cellule del midollo spinale si possono distinguere in due grandi categorie cioè: cellule con abbondante protoplasma, e cellule con scarso protoplasma. Queste ultime comprendono sia cellule con nucleo molto vistoso, sia cellule di piccole dimensioni.

Nelle cellule con abbondante protoplasma esiste un ricco apparato mitocondriale che in alcuni elementi è rappresentato da soli granuli, in altri da granuli e bastoncini, raramente da qualche filamento.

Nel primo caso, quando cioè si hanno soli granuli, questi sono distribuiti in tutto il protoplasma con una certa uniformità. Invece nelle

cellule in cui oltre ai granuli abbiamo anche bastoncini e filamenti, i mitocondri o presentano una disposizione che ricorda quella che essi assumono nelle cellule dei gangli in vicinanza dei corpi di Nissl (Fig. 9); oppure seguono il decorso delle neurofibrille e ciò specialmente in vicinanza del punto di partenza dei prolungamenti cellulari e sui prolungamenti stessi (Fig. 8).

Nelle cellule con scarso protoplasma il condrioma è rappresentato quasi esclusivamente da granuli i quali, il più delle volte, formano come una incrostazione perinucleare; altre volte invece troviamo attorno al nucleo 2 o più strati (Fig. 10); nelle cellule di piccole dimensioni, poi, l'apparato mitocondriale è rappresentato da pochi granuli per lo più raccolti su di un lato del nucleo. È da notare che s'incontrano spesso delle cellule, non molto grandi, nelle quali il protoplasma ed il nucleo hanno assunto una tinta più bruna; in esse il sottile strato di citoplasma

Fig. 12.



Fig. 13.

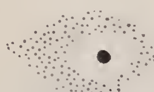


Fig. 14.



Fig. 15.



Fig. 12—13. Grosse cellule del bulbo di *Testudo Graeca*. Ingr. come sopra. Fig. 14. Cellula piccola del bulbo di *Testudo Graeca*. Ingr. come sopra. Fig. 15. Cellula media del bulbo di *Testudo Graeca*. Ingr. come sopra.

è così pieno di granuli mitocondriali da dare l'aspetto di una massa omogenea e rendere molto difficile l'individualizzazione dei singoli elementi (Fig. 11).

Bulbo.

Come nel midollo spinale, la sostanza grigia del bulbo appare costituita da travate con granuli più o meno abbondanti.

Le cellule si possono dividere in cellule di grandi e di piccole dimensioni: tra le une e le altre si hanno i varii stadii di passaggio.

Le cellule piccole hanno per la maggior parte forma sferoidale; il nucleo è eccentrico. In tali cellule troviamo solamente granuli mitocondriali (Fig. 14).

Le cellule grosse hanno forma variabilissima; in alcune l'apparato mitocondriale è rappresentato da soli granuli sparsi nel protoplasma, senza alcuna speciale disposizione (Fig. 12); in altre invece da granuli, bastoncini e qualche filamento i quali, specialmente vicino al punto di partenza dei prolungamenti cellulari, pare che seguano l'andamento delle

neurofibrille. I mitocondri — per lo più bastonciniformi — si riscontrano anche nei prolungamenti della cellula, ove spesso si vedono lungo il decorso delle neurofibrille (Fig. 12).

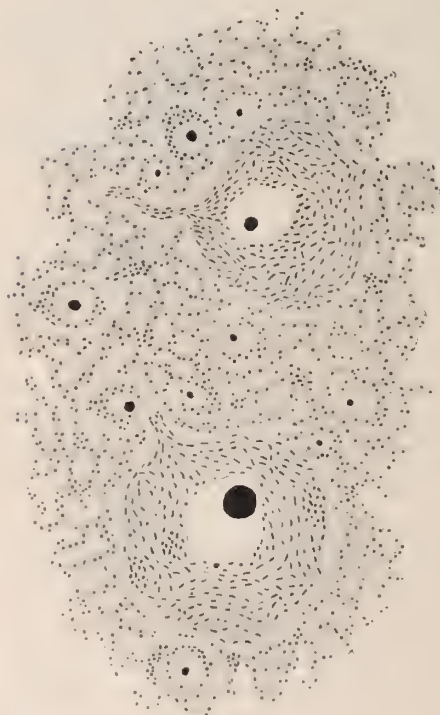
Anche qui ho osservato delle cellule, generalmente di media grandezza, in cui citoplasma e carioplasma si colorano in bruno intenso; in esse i mitocondri si trovano disposti in mucchi molto compatti, sì da rendere quasi impossibile di stabilire se ci troviamo in presenza di mitocondri granulari o bastonciniformi (Fig. 15).

Lobi ottici.

Nelle cellule del tetto dei lobi ottici osserviamo elementi di grandi, medie, e piccole dimensioni.

Nelle cellule grosse, di forma svariata, l'apparato mitocondriale è costituito da granuli, bastoncini, e molto raramente da qualche filamento (Fig. 16). Qualche volta troviamo anche cellule in cui si hanno soli granuli.

Fig. 16.



Segmento dei lobi ottici di *Testudo Graeca* con sostanza nervosa. cellule grosse e cellule piccole. Ingr. come sopra.

I mitocondri quasi sempre assumono la disposizione delle neurofibrille (Fig. 16). Spesso le osserviamo lungo esse, e ciò specialmente sui prolungamenti, e vicino al punto di partenza di questi. In alcune cellule si ha una disposizione speciale del condrioma; in esse il protoplasma appare costituito da travate che assumono una tinta diffusa più intensa e delimitano degli spazii chiari; i mitocondri, granulari o bastonciniformi sono abbondantissimi lungo tali travate, mancano invece nel rimanente protoplasma (Fig. 17); sui prolungamenti seguono poi nettamente il decorso delle neurofibrille.

Le cellule medie si presentano fusate o piriformi.

In esse oltre ai soliti granuli e bastoncini mitocondriali troviamo anche qualche filamento; l'apparato mitocondriale segue il decorso delle neurofibrille e si estende anche ai prolungamenti cellulari (Fig. 18 e 19).

Le cellule piccole presentano forma più o meno rotondeggiante; il nucleo raramente è centrale, e l'apparato mitocondriale risulta costituito da soli granuli a cui, molto raramente, si aggiunge qualche cortissimo bastoncino (Fig. 16).

In alcune zone del tetto dei lobi ottici le cellule sono molto vicine tra di loro, sì che riesce alle volte difficile stabilire i limiti cellulari. In tal caso o troviamo un solo strato di granuli disposti tra nucleo e nucleo

Fig. 17.

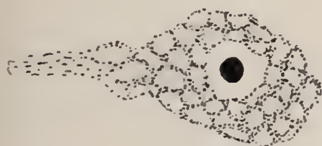


Fig. 18.



Fig. 19.



Fig. 20.

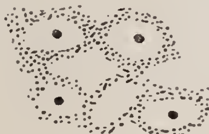


Fig. 21.



Fig. 17. Cellula grossa dei lobi ottici di *Testudo Graeca.* Ingr. come sopra. Fig. 18—19. Cellule medie dei lobi ottici di *Testudo Graeca.* Ingr. come sopra. Fig. 20—21. Gruppi di cellule del tetto dei lobi ottici di *Testudo Graeca.* Ingr. come sopra.

(Fig. 21), oppure troviamo che attorno ad ogni nucleo c'è un fitto alone costituito di granuli con qualche bastoncino che si confonde con l'alone delle cellule vicine e con i granuli della sostanza grigia (Fig. 20).

Cervello anteriore.

Le cellule piccole presentano granuli; quelle grandi, granuli e bastoncini. I granuli sono sempre molto più piccoli di quelli riscontrati negli altri segmenti del nevrasse; non presentano disposizione speciale nelle cellule più piccole (Fig. 22); nelle grosse invece spesso appaiono come distribuiti su di un sottilissimo reticolo protoplasmatico, o sono un po' ammassati a formare piccoli mucchi. Negli elementi nei quali oltre ai granuli si hanno bastoncini mitocondriali, si constata general-

mente nel condrioma una disposizione che ricorda l'andamento delle neurofibrille (Fig. 22).

Come abbiamo visto si ha un apparato mitocondriale e nel corpo cellulare. e nei prolungamenti che da esso si partono. Ho cercato anche di stabilire se esso esiste nel cilindrasse, ma la ricerca è stata difficile, perchè, come è noto, non è facile, se non si ricorre ai metodi d'impregnazione, determinare quale dei prolungamenti cellulari sia il cilindrassile. Ho cercato allora di risolvere la questione ricorrendo ai cilindrassi già avvolti da guaine mieliniche. In sezioni trasverse ho potuto osservare dentro

Fig. 22.

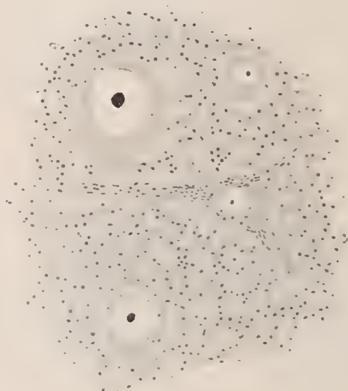


Fig. 23.

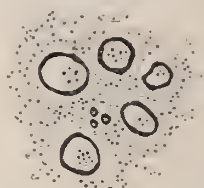


Fig. 22. Segmento del cervello anteriore di *Testudo Graeca* con sostanza nervosa, cellule grosse e piccole. Ingr. come sopra. Fig. 23. Gruppo di fibre mieliniche, sezionate trasversalmente. *Testudo Graeca*. Ingr. come sopra.

la guaina stessa il cilindrasse colorato pallidamente dall'ematossilina, e in esso dei granuli mitocondriali (Fig. 23). In sezioni longitudinali non ho ottenuto dei preparati decisivi poichè solo raramente si possono osservare dentro le guaine una o due serie di bastoncini, e ciò per brevissimo tratto.

Come già ho accennato, allo scopo di stabilire con più esattezza la natura mitocondriale delle inclusioni cellulari da me descritte ho voluto eseguire dei preparati di controllo col metodo di Benda. I preparati ottenuti con quest'ultimo metodo coincidono nelle linee generali con quelli ottenuti col Regaud, sì che, può dirsi che anche il metodo Benda rivela un apparato mitocondriale nelle cellule nervose adulte.

Da quanto ho fin qui esposto appare accertata l'esistenza di un apparato mitocondriale in tutte le cellule del nevrasse dei rettili adulti da me esaminati. Tale condrioma risulta formato da granuli e da bastoncini, mancano, o almeno sono molto rari, i filamenti. Queste formazioni corrispondono verosimilmente a quelle che sono state già descritte e variamente interpetrate da Altmann (1) (1894), Held (7) (1897), Levi (13) (1896), ecc.

I granuli non hanno eguali dimensioni in tutte le cellule; ma raggiungono la maggior grossezza nelle cellule piccole dei gangli spinali, mentre sono estremamente piccoli nel cervello anteriore. I bastoncini variano poco e riguardo alla lunghezza e riguardo al calibro. Sono molto corti nella sostanza grigia che avvolge le cellule, e molto sottili nelle cellule del cervello anteriore.

In quanto alla sede del condrioma nel corpo cellulare, può dirsi che esso non occupi una sede speciale nel citoplasma, ma sia nelle cellule di grandi che di piccole dimensioni lo troviamo esteso a tutto il corpo cellulare ed ai prolungamenti che da esso si partono. Solamente in alcune cellule nervose dei gangli spinali appare limitato soltanto a quella parte del citoplasma in cui le neurofibrille assumono un andamento vorticoso, e in tale caso gli elementi che lo costituiscono sono prevalentemente bastonciniformi. Questo reperto è importante perchè ci permette di stabilire quali rapporti intercedano tra neurofibrille e condriosomi. Troviamo infatti che i condriosomi sono sempre scaglionati lungo il percorso delle neurofibrille e le seguono anche sui prolungamenti, dove anzi riesce più agevole studiarne i rapporti. Lo studio di questi rapporti ci permette di avanzare l'ipotesi che le neurofibrille siano composte di una sostanza acromatica che ne formerebbe lo scheletro, e sulla quale si troverebbero disposti, ad intervalli brevi e quasi regolari, dei bastoncini più o meno corti di natura mitocondriale. Ricordo a questo proposito che Cajal (4) (1909) ammette che i filamenti del vortice contengano degli ispessimenti cromatici allungati.

Il comportamento che assumono i condriosomi rispetto alle zolle di Nissl è quello descritto da Nageotte, e cioè i mitocondri, siano essi granulari che bastonciniformi, si trovano costantemente nello spazio che intercede tra i corpi di Nissl; non penetrano mai all'interno di essi; spesso invece vi formano attorno delle incrostazioni.

Come risulta dalla precedente descrizione il condrioma non assume affatto una disposizione che ci possa far pensare ad un apparato reticolare interno, sia pure incompleto; e quindi (d'accordo in questo con Levi) non posso ascrivermi all'opinione di Meves ed Hoven i quali dicono che

i condriosomi che rimangono nelle cellule gangliari adulte stiano a rappresentare l'apparato reticolare interno di Golgi o il »Binnennetz« di Kopsch.

Dai reperti da me descritti risulta che non esistono caratteri o disposizioni speciali dell'apparato mitocondriale, sì che, dallo esame di esso si possa stabilire a quale dei segmenti del nevrasse appartenga una data cellula. Bisogna però notare che in tutte le cellule di piccole dimensioni l'apparato mitocondriale è costituito semplicemente da granuli. Nelle cellule grosse, invece, oltre ai granuli riscontriamo anche bastoncini. In generale poi, l'apparato mitocondriale è più ricco nella zona perinucleare della cellula, mentre gli elementi che lo costituiscono vanno diminuendo man mano che ci portiamo verso la periferia del corpo cellulare.

Appare anche evidente da quanto ho esposto che il condrioma non deve essere considerato quale un elemento secondario nella struttura della cellula nervosa. Esso, come è noto, nasce con l'elemento cellulare e in esso si mantiene, sia pure con qualche modificazione, per tutta la vita (Luna). I suoi caratteri morfologici ben definiti; la costanza del reperto e della sede, almeno nei rettili da me esaminati; i rapporti intimi ed anch'essi costanti con le neurofibrille e colle zolle di Nissl, ci debbono far pensare che i condriosomi rappresentino un elemento importante nella struttura della cellula nervosa, ed è quindi da escludere che possano avere il valore di prodotti del metabolismo cellulare.

Ma quanto a stabilire il vero significato dei condriosomi nelle cellule nervose, le nostre conoscenze molto limitate sull'essenza vera e sulla funzione dei mitocondri in generale, non ci permettono neppure di avanzare delle ipotesi.

Molti elementi infatti ancora ci mancano per spiegarci il significato di tali formazioni, che sono state oggi dimostrate in tutte le cellule animali e vegetali; e per quanto riguarda in ispecial modo il condrioma delle cellule nervose embrionali, si hanno ancora molte lacune; infatti non è stato possibile lo stabilire esattamente se ed in quanto i mitocondri partecipano alla formazione delle neurofibrille, nè se essi danno alla cellula dei caratteri speciali; poi si sconosce completamente il loro modo di comportarsi sia nei processi di degenerazione che negli stati patologici. E solo quando tali lacune saranno colmate da ricerche complete, si potranno avanzare delle ipotesi sul significato morfologico e funzionale dei condriosomi delle cellule nervose.

Bibliografia.

1. Altmann. 1894. Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen. Leipzig.
2. Benda, C. 1903. Die Mitocondria. Erg. der Anat. u. Entw. Bd. XII.
3. Busacca. 1912. L'apparato mitocondriale nelle cellule nervose adulte. Anat. Anz. Bd. XLII.
4. Ramon y Cajal, S. 1909. Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés. Vol. I. Cap. XV.
5. Cowdry. 1912. Mitocondria and other Citoplasmic constituents of the Spinal Ganglion Cells of the Pigeon. Prel. nat. The Anat. Rec. Vol. VI.
6. Duesberg, J. 1910. Les chondriosomes des cellules embryonnaires du poulet, et leur rôle dans la genèse de myofibrilles, avec quelques observations sur le développement des fibres musculaires striées. Arch. f. Zellf. Bd. IV. Hft. 2.
7. Held. 1897. Beiträge zur Struktur der Nervenzellen und ihrer Fortsätze. Zweite Abhandlung. Arch. für Anat. und Phys., Anat. Abt. 1897.
8. Hoven, H. 1910. Sur l'histogenèse du système nerveux periférique chez le poulet, et sur le rôle des chondriosomes dans la neurofibrillation. Arch. de Biologie. T. XXV.
9. Laignel Lavastine et Jonnesco, V. 1911. Sur le chondriome de la cellule de Purkinje du cobaye. C. R. Soc. Biol.
10. Lenhossek. 1895. Centrosom und Sphäre in den Spinalganglienzellen des Frosches. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLVI.
11. G. Levi. 1897. Ricerche citologiche comparate sulla cellula nervosa dei vertebrati. Rivista di Pat. nerv. e ment. Vol. II.
12. —— 1911. Sulla presunta partecipazione dei condriosomi alla differenziazione cellulare. Arch. ital. di anat. e di embr. Vol. X. Fasc. I.
13. —— 1896. Contributo alla fisiologia della cellula nervosa. Riv. Pat. nerv. e ment.
14. Luna, E. 1912. I lipoidi nella cellula nervosa. Folia Neurobiologica.
15. —— 1913. I condriosomi nelle cellule nervose. Nota prev. Anat. Anz. Bd. LXIV.
16. Meves, Fr. 1908. Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen. Citologische Studien am Hühnerembryo. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXII.
17. Nageotte, J. 1909. Mitochondries du tissu nerveux. C. R. Soc. Biol. T. LXVI.

Über Kernteilungen in der Wurzelspitze von Allium cepa.

Von

L. von Schustow.

(Aus dem Anatomischen Institut in München, Vorstand Prof. Dr. J. Rückert.)

Mit Tafel XIV—XVI.

Inhaltsverzeichnis.

I. Besprechung der Befunde und Theorien von Bonnevie.

Die Cytologie hat sich lange Zeit hindurch vorzugsweise mit dem Studium der generativen Zellen, insbesondere mit den Reifungsteilungen und den dieselben vorbereitenden Vorgängen beschäftigt. Die weittragenden vererbungstheoretischen Erwägungen, die sich an die hiebei gewonnenen Untersuchungsresultate knüpfen ließen, machen diese Bevorzugung sehr wohl verständlich.

Das Studium der Kernteilung in den Somazellen trat dem gegenüber in den Hintergrund. Man war wohl der Anschauung, daß die karyokinetischen Vorgänge in ihren wesentlichen Zügen durch das klassische Schema, welches von FLEMMING und seinen Zeitgenossen hiefür in den 80er Jahren aufgestellt worden ist, hinreichend erklärt seien.

Als man aber vor etwa 10 Jahren mit einer beim Studium der generativen Zellen verfeinerten Technik anfing, erneute Untersuchungen über den Ablauf der somatischen Teilungen anzustellen, da ergaben sich wichtige Resultate insbesondere nach zwei Richtungen hin.

Erstens zeigte es sich, daß die somatischen Mitosen in ihren Einzelheiten sehr viel komplizierter sind, als man es vorher angenommen hatte, und daß sich bei der Erforschung der mitotischen Einzelvorgänge eine Reihe von Fragen ergeben, die zum Teil von großer prinzipieller Bedeutung sind. Von diesen Fragen stehen manche und gerade besonders wichtige wie z. B. die über die Chromosomengenese und über die Art der Chromosomenteilung heute noch zur Diskussion.

Zweitens aber bekam man durch die genaue Kenntnis der somatischen Mitose neue Grundlagen für die richtige Einschätzung der morphologischen Erscheinungen, die man im Ablauf der generativen Mitosen kennen gelernt hatte; jetzt erst war ein Vergleich zwischen generativen und somatischen Mitosen möglich und damit auch erst ein Urteil darüber, ob und durch welche Besonderheiten sich die Geschlechtszellen von den somatischen in ihrem morphologischen Verhalten prinzipiell unterscheiden. Die in dieser Richtung unternommenen Untersuchungen von GRÉGOIRE und seinen Schülern, von HÄCKER, von CHRISTINE BONNEVIE u. a. haben bewirkt, daß die sogenannten heterotypischen Charaktere, welche früher bei dem vorwiegend auf die Generationszellen gerichteten Interesse in großer Anzahl angenommen worden waren, nunmehr eine bedeutsame Einschränkung erfuhren. Manche morphologische Erscheinung, die man vordem nur in den Generationszellen gekannt und daher als diesen eigentümlich erklärt hatte, fand sich in der Regel oder nur gelegentlich auch im Verlauf somatischer Mitosen.

Eine der letzten gründlichen Untersuchungen, die sich mit all den einschlägigen Fragen befaßt und auch den Vergleich zwischen den somatischen und generativen Mitosen am selben Objekt konsequent durchführt, ist die von Christine Bonnevie. Diese Arbeit besteht aus zwei Teilen.. Der erste ist im Archiv für Zellforschung im Jahre 1908 erschienen. Er befaßt sich ausschließlich mit den somatischen Teilungen und zwar auf Grund der Untersuchungen an *Ascaris megalocephala*, *Allium cepa* und *Amphiuma*. Der zweite ist ebenfalls im Archiv für Zellforschung im Jahre 1911 erschienen. Er enthält die Beschreibung der Mitosen in den Pollensäcken von *Allium cepa* und auch den Vergleich mit den somatischen Mitosen derselben Pflanze.

Zum Studium der somatischen Teilungen haben der Verfasserin die Wurzelspitzen van *Allium*, die Furchungskerne von *Ascaris* und gewisse Chromatinstrukturen der Gonocytenkerne von *Amphiuma* gedient. Ich möchte hier besonders ihre Beschreibung der Teilungsvorgänge bei *Allium cepa* berücksichtigen. da sie an diesem Objekt auch die Reifungsmitosen studiert hat. Dies scheint mir umsomehr zulässig, als die Verfasserin ausdrücklich betont, daß die von ihr bei *Allium* vorgefundenen Verhältnisse auch bei den andern von ihr untersuchten Objekten mit im einzelnen geringen Abweichungen, aber mit absoluter Übereinstimmung in allen prinzipiell wichtigen Punkten bestehen.

Ohne im einzelnen ihre Beschreibung der Teilungsstadien wiederzugeben, werde ich nur eine Zusammenfassung der prinzipiell wichtigen und neuen Ergebnisse ihrer Untersuchung hier bringen, von den Befunden selbst nur diejenigen. die für die von ihr aufgestellten Anschauungen von Bedentung sind. Das Material, das Bonnevie (1) zu ihren Untersuchungen benutzte. war den Wurzelspitzen von *Allium cepa* entnommen. Vorzugsweise hat sie die im Flemmingschen Gemisch fixierten und mit Saffranin oder Eisenhämatoxylin gefärbten Wurzelspitzen untersucht. Die Schnittdicke ihrer Serien war 1—5 μ.

a) Chromosomengenese nach Bonnevie.

Die ersten Umwandlungen der Chromosomen, wie sie Bonnevie (1) beobachtet hat, sollen in der frühen Telophase im Stadium des »Tassement polaire« beginnen. Hier soll jedes Chromosom eine Drehung im Sinne einer Spiralenbewegung in seiner ganzen Länge erfahren, wobei die Längsachse der Spirale mit der Längsachse des Chromosoms zusammenfällt. Diese Drehung hat sie sowohl in der Profilansicht der Chromosomen feststellen können (Bonnevie, [1] Fig. 40) wie auch an optischen Querschnitten, wo sie in einer Umwandlung des zirkulären Metaphasen-Quer-

schnittes in einen polygonalen ihren Ausdruck findet (Bonnevie [1], Fig. 75). In diesem Stadium bleibt die chromatische Substanz immer noch gleichmäßig an der Oberfläche des Chromosoms verteilt in der Weise, daß sie auf dem optischen Querschnitt als dunkle, gefärbte Schichte eine helle Innenzone umgibt, in den Metaphasenchromosomen in Ringform, in den Telophasenchromosomen als eine dem jeweiligen polygonalen Querschnitt entsprechend geformte Außenzone. Im weiteren Verlauf der Telophase, während die Chromosomen des Tochterkerns sich von einander entfernen, sieht Bonnevie (1) die vorher gleichmäßig auf die ganze Oberfläche des Chromosoms verteilte Substanz, sich auf »eine erhabene Spiralleiste zusammenziehen, die von einem Ende des Chromosoms zum andern kontinuierlich zu verlaufen scheint.« Inzwischen soll die Substanz der Innenzone ihre Färbbarkeit verlieren, so daß die Chromatinspiralen anscheinend ganz frei im Kern liegen (Bonnevie [1] Fig. 59). Im weiteren Verlauf »treten zwischen den einzelnen Chromosomen Anastomosen zutage und zwar vornehmlich zwischen den Windungen der Chromatinspiralen«. Die Anastomosen sind zuerst sehr zart und daher von dem Stamme des ursprünglichen Chromatinfadens leicht unterscheidbar (Bonnevie [1], Fig. 45, 59, 60). »Bald werden aber die Anastomosen auf Kosten der Chromatinfäden chromatinreicher, bis zuletzt jeder Unterschied zwischen Fädchen und Anastomosen verschwunden ist. Das Chromatin scheint jetzt auf ein im ganzen Kern gleichmäßig entwickeltes Kernnetz verteilt zu sein« (Bonnevie [1], Fig. 46, 61, 62).

Die achromatische Substanz soll sich in Saffraninpräparaten bis in das Stadium der feinsten Verteilung des Chromatins in hellroter Färbung nachweisen lassen, sodaß man an ihr den Umriß des alten Chromosoms noch erkennt (Bonnevie [1], Fig. 46). Schließlich löst sie sich im Kernsaft vollständig auf.

In der Prophase soll die Wiederbildung der Chromosomen in der Weise eingeleitet werden, daß die Anastomosen verschwinden, indem ihre chromatische Substanz in die Spiralfäden zurückgezogen wird (Bonnevie [1], Fig. 63). Auf diese Weise erscheinen wieder Chromatinspiralen, welche denen der vorausgegangenen Telophase genau entsprechen. Eine durch ihre Umbiegungspunkte gezogene Linie würde noch annähernd den Umfang und den Verlauf des alten Chromosoms beschreiben. Im weiteren Verlauf der Prophase nimmt jedes ursprünglich dünne Chromatinfädchen an Dicke zu, nach Bonnevies Auffassung durch Imbibition mit Kernsaft. Als Beweis für die Richtigkeit dieser Ansicht soll die Tatsache dienen, daß in dem Maße, als die Dickenzunahme des Chromosoms erfolgt, gleichzeitig eine Aufrollung der anfangs engen Spiralwindungen zu mehr

offenen Spiralen stattfindet, bis schließlich die alte spiralige Drehung nur noch stellenweise zu erkennen ist. Diese spiraligen Fädchen, die in der oberflächlichen Schichte des Chromosoms entstanden waren (Bonnevie nennt sie »endogen« entstanden), die sich von der Telophase durch das Ruhestadium bis in die Prophase verfolgen ließen, sollen also die definitiven Chromosomen der nächsten Zellgeneration repräsentieren. Diese Art der Chromosomengenese ist der erste wichtig Punkt, den Bonnevie (1) auf Grund ihrer Untersuchungen der somatischen Teilungen glaubte feststellen zu können.

b) Bonnevies Befunde über die Längsspaltung der Chromosomen.

Nun komme ich zur Besprechung eines weiteren Vorganges, den Bonnevie im Ablauf der Mitosen beobachtet hat, ohne ihn allerdings erklären zu können. Sie hat nämlich in der frühen Prophase (Bonnevie [1], Fig. 67, 68) eine konstant auftretende vergängliche Längsspalte in den spiraligen Chromatinfädchen beobachten können. Diese Spalte soll nach ihr im weiteren Verlauf der Prophase zunächst eine Zeitlang deutlicher werden, indem die beiden Hälften sich von einander entfernen. Später aber verschwindet sie durch völlige Verschmelzung der beiden Längshälften, »sodaß die Chromosomen zur Zeit der Auflösung der Kernmembran als völlig einheitliche Gebilde erscheinen« (Bonnevie [1], Fig. 52). Den Beweis für diese Annahme findet Bonnevie in dem Aussehen der Querschnittsbilder. Das Querschnittsbild der späteren Prophase ist nach ihr eben nicht doppelt, sondern einheitlich, meist oval, oft aber zirkulär. Die frühere Längsspaltung der Chromosomen soll nicht mehr nachweisbar sein. Auf dieses Stadium der Verschmelzung, welches Bonnevie mit den Fig. 69 und 70 illustriert, folgt dann die definitive Teilung des Chromosoms. Nun besteht die Schwierigkeit, auf die auch Bonnevie hindeutet, in der Frage, ob eine Beziehung dieser Längsspalte der frühen Prophase zu der definitiven Spaltung der Chromosomen vorhanden ist. Ebenso fraglich ist die Beziehung der frühen prophasischen Spalte zu jener Spalte, deren Auftreten Bonnevie »ausnahmsweise« in der Anaphase (Bonnevie [1], Fig. 79) beobachtet hat und zu gewissen Bildern der Telophasenkerne, von denen Bonnevie sagt, daß sie sich nur dadurch erklären lassen, daß in einem Chromosom anstatt einer chromatischen Spirale, deren zwei gebildet worden sind (Fig. 42 links). Bonnevie begnügt sich damit, diese Fälle des Auftretens einer Längsspalte zusammenzustellen, ohne über ihren ursächlichen Zusammenhang ein Urteil abzugeben. Dieser Zusammenhang scheint ja auch tatsächlich sehr verwischt zu sein durch die zwischen die doppelfädigen Stadien, nach Bonnevies

Auffassung, eingeschobenen andern, in denen die chromatischen Strukturen, seien es chromatische Fädchen, seien es Chromosomen völlig einheitlich erscheinen. So besteht zwischen dem nach BONNEVIE zuweilen vorkommenden doppelfädigen Stadium der Telophase und einem ebensolchen der früheren Prophase das Ruhestadium mit einfachen spiraligen Fäden und zwischen das doppelfädige Stadium der früheren Prophase und die Doppelchromosomen der Metaphase ist das Stadium der späteren Prophase eingeschaltet, welches absolut einheitliche Chromosomen haben soll. Auf die Besprechung dieser Schwierigkeiten werde ich beim Vergleich meiner Befunde mit denen BONNEVIES nochmals zurückkommen.

c) Die Chromosomenachse und ihre Bedeutung.

Jetzt möchte ich noch etwas näher auf den definitiven Teilungsprozeß der Chromosomen, wie ihn BONNEVIE beschreibt, eingehen. BONNEVIE (1) konnte auf dem Querschnitt der Chromosomen in den Stadien vor der Metaphase (also in der spätesten Prophase) folgende Gebilde unterscheiden. Eine dunkle Oberflächenschichte, eine helle Innenzone und in deren Mitte einen dunklen Punkt (BONNEVIE [1], Fig. 71, 72). Dieser dunkle Punkt, den sie in jedem Chromosomenquerschnitt sehen konnte, soll nach BONNEVIES Auffassung den Querschnitt einer im Innern des Chromosoms gelegenen Achse repräsentieren. In der Metaphase soll nun eine Zerlegung der Chromosomenachse in zwei Tochterachsen erfolgen. Zu gleicher Zeit schnürt sich der ovale Chromosomenquerschnitt biskuitförmig ein (BONNEVIE [1], Fig. 73a), sodaß jede Tochterachse in ein Tochterchromosom zu liegen kommt. Auf diese Weise wird die innere Struktur des Mutterchromosoms unmittelbar auf die Tochterchromosomen übertragen.

Im Anschluß an diese Beobachtungen bringt BONNEVIE Hypothesen über die Bedeutung der Chromosomenachse. Sie betrachtet dieselbe nicht als einen dauernden Bestandteil des Chromosoms, sondern glaubt, daß sie kurz vor der Teilung desselben entstehe und analog dem Centriol des Centrosoms ein Teilungsorgan des Chromosoms vorstelle. Auf diese Deutung der BONNEVIEschen Befunde, sowie die Befunde selbst werde ich bei der Besprechung meiner eigenen Befunde noch zurückkommen.

Dieselbe Art der Chromosomengenese, d. h. die Ausbildung der chromatischen Spiralen in den Telophasenchromosomen, die Bildung des Ruhekerns mittels Anastomosen, die zwischen den Spiralen entstehen, und das Wiedererscheinen der freien Spiralen in der Prophase, sowie das Vorhandensein einer Chromosomenachse hat BONNEVIE (3) auch in den Generationszellen beobachten können. Sie wurden von ihr in ihrer Arbeit

»Chromosomenstudien III. Über Chromatinreifung in *Allium cepa*« beschrieben. Aber nicht nur in bezug auf die Chromosomengenese und die innere Struktur der Chromosomen, sondern auch überhaupt im Ablauf der Teilungen selbst findet sie die größte, weitestgehende Ähnlichkeit zwischen den somatischen und generativen Mitosen. Diese Anschauung, die Bonnevie schon in allen ihren früheren Arbeiten vertreten hat (Bonnevie [2]), wird auch durch diesen Vergleich der beiderlei Mitosen bei *Allium cepa* gestützt.

d) Bonnevies Befunde an den generativen Zellen.

In ihrer Arbeit über die Reifungsteilungen beschreibt Bonnevie zunächst noch einmal die Mitosen an den Wandzellen der Pollensäcke. Sie gleichen den oben beschriebenen somatischen Teilungen der Wurzelspitze, mit Ausnahme weniger geringfügiger Abweichungen, z. B. der Bildung eines Chromatinknotens, die aber mehr äußerlicher Art sind und durch die Form der Zellen bedingt sein sollen. Dann geht die Verf. zur Beschreibung der Pollenmutterzellen über. In der Telophase der letzten Teilung der Wandzellen findet sie noch keine Abweichungen von dem gewöhnlichen Verlauf somatischer Mitosen. Auch in der Ausbildung und Rückbildung des Ruhekerns ist kein Unterschied bemerkbar. Hie und da treten zwischen den freien Spiralen Anastomosen auf und dadurch entsteht der Ruhekern. Dann ziehen sich die Anastomosen zurück, die chromatischen Fädchen treten in ihrer ganzen Länge zum Vorschein, indem sie immer zickzackförmig gebogen oder spiralförmig gedreht erscheinen. Jetzt aber wird nach Bonnevie (3) der Charakter der somatischen Teilung alteriert durch Einschaltung eines Prozesses, der in den Stadien der Präsynapsis, Synapsis und Postsynapsis seinen Ausdruck findet und zu einer paarweisen Konjugation der Chromosomen führt. Dieser Prozeß wird damit eingeleitet, daß die Prophasenfädchen mehr oder weniger paarweise angeordnet werden (Präsynapsis, Bonnevie [3] Fig. 20 u. 21) und so immer zu zweien von einer im Inneren des Kerns gelegenen chromatischen Substanzanhäufung (Bonnevies »Chromatinknoten«) radiär ausstrahlen. Die Doppelfädigkeit läßt sich in dem darauffolgenden Stadium immer nachweisen, sie wird sogar zusehends deutlicher (Bonnevie [3] Fig. 22 23 24).

Zu gleicher Zeit treten im Kerninneren außer dem schon beschriebenen Chromatinknoten andere Chromatinansammlungen auf, bis fast das ganze Chromatin zu einer einzigen Masse zusammengeballt erscheint. Aus dieser Chromatinmasse ragen dann Doppelfädchen heraus. Es ist das Stadium der Synapsis nach Bonnevie ([3] Fig. 22). In dem sich

anschließenden Stadium der Postsynapsis sollen »die Komponenten jedes der oben beschriebenen Fädchenpaare zu einem einzigen Faden verschmelzen, in welchem während einer langen Periode keine Spur von Duplizität wahrzunehmen ist« (Bonnevie [3], Fig. 27 und 28). Die beschriebene Chromatinmasse lockert sich dann allmählich auf, es geht aus ihr eine Anzahl Fäden hervor, die zweimal so dick sind, wie die Einzelfädchen eines Chromosomenpaares in der Präsynapsis. Die Prophase, die durch diese drei Stadien der Präsynapsis, der Synapsis und der Postsynapsis unterbrochen worden ist, zeigt in ihrem weiteren Verlauf wieder eine völlige Übereinstimmung mit der Prophase der somatischen Zellen. Die Chromosomen, deren Zahl auf die Hälfte reduziert ist, werden kürzer und dicker. Es tritt eine Längsspaltung in ihnen auf und die gespaltenen Chromosomen werden in die Äquatorialplatte eingestellt. Man sieht also, daß der Unterschied der generativen Teilungen gegenüber den somatischen mit jenem doppelfädigen Stadium, das Bonnevie in der frühen Prophase der ersten Reifungsteilung beschreibt, einsetzt. Dieses Stadium, welches nach Bonnevie also für die Reifungsmitosen absolut charakteristisch ist, soll auch die erste Andeutung des Prozesses der Chromosomenreduktion auf dem Wege der Parallelkonjugation enthalten. Wenn nun am Schluß der ersten Reifungsteilung die Tochterchromosomen zu den Polen aufsteigen, so zeigen sie bereits eine Längsspaltung, welche nach Bonnevie eine frühzeitige Trennung in die Tochterchromosomen der nächsten Mitose, also der zweiten Reifungsteilung bedeutet.

Indem diese Fäden an Dicke zunehmen, werden sie, ohne daß erst durch Anastomosenbildung es zu einer Ruhestruktur kommt, direkt in die Prophase der zweiten Reifungsteilung übergeführt. Dieser Ausfall der Ruhestruktur ist nach Bonnevie den Reifungsmitosen eigentümlich, was ja auch im Einklang mit den Befunden andrer Untersuchungen steht.

e) Die heterotypischen Merkmale nach Bonnevie.

Zusammenfassend kommt also Bonnevie bei ihrem Vergleich zwischen den Reifungsmitosen und den somatischen Mitosen zu der Anschauung, daß »sämtliche für den Lebenscyklus einer somatischen Zelle charakteristischen Perioden auch in jeder der beiden Zellgenerationen der Reifungsperiode vertreten sind«. Mit den Ausnahmen, daß erstens vor der zweiten Reifungsteilung die Ruheperiode ausgefallen ist und zweitens »in der Prophase der ersten Reifungsteilung eine Periode (die Chromosomenkonjugation) eingeschoben ist, für welche in den somatischen Zellen kein Seitenstück zu finden ist«. Sollen diese Feststellungen Bonnevies

zu Recht bestehen, so darf das Bild des Ruhekerns nur in der Reihe der Reduktionsteilungen fehlen und andrerseits dürfen sich in der Serie der somatischen Teilungsstadien jene Prophasenbilder mit doppelfädigen Chromosomen, die aus dem Chromatinknoten radiär ausstrahlen ebenso, wie die Synapsisstadien[1]) nicht vorfinden. Auf das Vorhandensein oder Fehlen dieser Bilder muß also beim Studium der somatischen Teilungen besonders geachtet werden. Von den beiden Merkmalen, die nach Bonnevie die Reifungsmitosen von den somatischen unterscheiden sollen, ist insbesondre das zweite von großer theoretischer Bedeutung. Indem nämlich Bonnevie das doppel- und parallelfädige Stadium für die Prophase der ersten Reifungsteilung reserviert und für diese Teilung als typisch betrachtet, stützt sie damit die Theorie der Parallelkonjugation. Ohne auf die viel erörterte Frage nach der Beurteilung dieser Theorie im allgemeinen einzugehen, möchte ich doch hier von vornherein folgenden Gesichtspunkt herausheben: Sollte der Nachweis gelingen, daß die nämlichen Bilder von Doppelfäden auch in der Prophase somatischer Zellen vorkommen, dann liegt keine Berechtigung vor, sie in den generativen Zellen als Ausdruck einer die Reduktion bewirkenden Parallelkonjugation anzusehen.

f) Zusammenfassung der Befunde und Anschauungen Bonnevies.

Das Ergebnis der Bonnevieschen Arbeit war also kurz gefaßt folgendes: 1. eine neue Theorie der Chromosomengenese[2]). 2. eine neue Beschreibung des Chromosomenaufbaues, im Anschluß daran eine neue Auffassung von der Teilung der Chromosomen, 3. in bezug auf die Reifungsteilungen läßt sie nurmehr zwei Unterscheidungsmerkmale

---

[1]) Was die Frage der Synapsis, ihres Zustandekommens und ihrer Bewertung im Cyklus der Prophasenstadien der ersten Reifungsteilung anlangt, so kann ich zu derselben auf Grund meiner Untersuchungen der somatischen Mitosen natürlich keine Stellung nehmen. Nur das eine möchte ich bemerken, daß ich synapisähnliche Zusammenschiebungen des Prophasenkerninhaltes in mangelhaft fixierten Wurzelspitzen hier und da getroffen habe und daß solche »Pseudosynapsiskerne« durch Alkoholfixierung absichtlich hervorgerufen werden konnten. Bilder von solcher Pseudosynapsis aus der Wurzelspitze von *Allium cepa* findet man bei Wassermann (38).

[2]) Wie Vejdovsky (37) hervorhebt, war die Spiralenstruktur der Chromosomen zuerst von Baranecky (Bot. Ztg. 1880) (zit. nach Vejdovsky) an *Tradescantia virginica* beschrieben, seitdem von einigen andern Autoren an verschiedenen pflanzlichen und tierischen Zellen gesehen, aber doch wenig beachtet worden, und so ist die Kenntnis von dieser Struktur in Vergessenheit gekommen, bis sie von Bonnevie neu entdeckt wurde.

gegenüber den somatischen Mitosen gelten: Den Ausfall des Ruhekerns zwischen den beiden Reifungsteilungen, und die Einschiebung des Reduktionsvorganges auf dem Wege der Parallelkonjugation in die Prophase der ersten Reifungsteilung. Diese Ergebnisse der Bonnevieschen Untersuchungen waren, was die Chromosomengenese und die Chromosomenstruktur betrifft, ganz neu (s. Anm. S. 348) und konnten einen gewissen, auch von der Verf. erhobenen Anspruch (Bonnevie [1], S. 497) auf allgemeine Gültigkeit machen, da sie an systematisch weit von einander entfernten Arten, wie *Allium*, *Ascaris* und *Amphiuma*, gemacht worden sind. Um diese Anschauungen Bonnevies und die Befunde, auf die sie sich stützen, nachzukontrollieren, wurde von mir auf Veranlassung von Herrn Professor Dr. Rückert im Münchener anatomischen Institut deren Nachprüfung zunächst an den somatischen Zellen vorgenommen.

Ich möchte an dieser Stelle Herrn Professor Dr. Rückert meinen verbindlichsten Dank aussprechen sowohl für die Anregung zu dieser Arbeit, wie für die Hilfe, die ich in ihrem Verlaufe in so reichem Maße von ihm erfahren habe. Auch Herrn Dr. Wassermann, Assistent am Anatomischen Institut, schulde ich für die wertvolle Unterstützung, die mir von seiner Seite zuteil geworden ist, aufrichtigen Dank.

Zur Nachkontrolle wurde *Allium cepa* gewählt. Schon aus dem Grunde, weil sich hier nach Aussage Bonnevies selbst die von ihr beschriebenen Verhältnisse am meisten klar und typisch zeigen. Die Alliumarten sind oft eingehend untersucht worden (Schaffner, Némec, Merriman, Berghs, Grégoire, Dehorne, Lundegardh u. a.). Eine erneute Untersuchung dieses Objekts scheint trotzdem gerechtfertigt durch den Umstand, daß bis jetzt noch keine Übereinstimmung in der Deutung der an *Allium* erhobenen Befunde erreicht wurde. Natürlich erwuchs daraus die Notwendigkeit, die eignen Befunde mit den entsprechenden Ergebnissen nicht nur Bonnevies, sondern auch der übrigen Untersucher unsres Objekts zu vergleichen. Zu diesem Zwecke werde ich nach der Beschreibung jeder Teilungsphase in die Diskussion mit vorliegenden Befunden und Anschauungen eintreten. Ein die Untersuchung begünstigendes Moment ist in der Größe der Chromosomen von *Allium* und ihrer geringen Anzahl gegeben. Die *Allium*-Zellen lassen sich leicht gut fixieren und färben. Die Teilungen gehen rasch vor sich, sodaß man auf einem Schnitt in günstigen Fällen fast alle Teilungsstadien treffen kann. Die Größe der einzelnen Zellen überschreitet für gewöhnlich nicht 25 μ, so daß man auf entsprechend dicken Schnitten auch ganze Zellen bequem studieren kann.

II. Eigene Untersuchungen.

a) Technisches.

Als Material dienten mir die Wurzelspitzen von *Allium cepa*-Zwiebeln, die in Wasser oder Sägespänen, oder in Nährlösung gezogen wurden. Als Nährlösung benutzte ich das gebräuchliche Gemisch von

1000 g destilliertes Wasser,
0,5 g Salpeter,
0,2 g schwefelsaure Magnesia und
0,1 g Eisenvitriol.

Ich will gleich an dieser Stelle hinzufügen, daß die verschiedenen Substrate, in denen sich die Wurzelspitzen entwickelt hatten, auf das morphologische Verhalten der Zellen ohne besonderen Einfluß geblieben sind. Es schienen weder Form- noch Größenunterschiede, noch die Häufigkeit der Teilungen, nach der Zahl der jeweils vorhandenen Teilungsbilder berechnet, beeinflußt zu sein. Meine Bilder stammen meist aus den Wurzelspitzen, die in der oben angegebenen Nährlösung oder in Sägespänen gewachsen waren. Einige aber wurden den Wurzelspitzen, die im Wasser sich entwickelten, entnommen. Als Fixierungsflüssigkeit benutzte ich die wäßrige Flemmingsche Lösung, die Lösungen von Carnoy, Gilson, Bouin, Meves-Flemming, Chamberlein, Sublimat-Eisessig. Die besten Resultate bekam ich nach Anwendung der Flemmingschen Lösung und nach Fixierung mit Sublimat-Eisessig. Am meisten alteriert werden, wie es auch Lundegardh (24) fand, durch die Fixierungsflüssigkeiten die Stadien, wo das Chromatin eine feine Verteilung erreicht, also die Stadien, die sich um den Ruhekern gruppieren, die Übergänge aus der späten Telophase in die Ruhestruktur, die Ruhestruktur selbst und die ersten Andeutungen der Prophase; dieser Empfindlichkeit entsprechend weisen die Zellkerne dieser Stadien je nach der angewandten Fixierungsflüssigkeit die meisten Unterschiede in ihrer Struktur auf. Stadien mit wohl ausgebildeten Chromosomen dagegen, also von der Prophase ab bis in die Telophase hinein erhalten nach allen Fixierungsmethoden annähernd das gleiche Aussehen. Auf die Unterschiede, die von den verschiedenen Fixationen herrühren, wird an den entsprechenden Stellen, nämlich bei der Beschreibung der Ruhekerne näher eingegangen. Eingebettet war mein Material ausschließlich in Paraffin. Die Schnittdicke der Serien variierte zwischen 3—30 μ. Zur Stückfärbung benutzte ich Carmin, zur Schnittfärbung Saffranin, Eisenhämatoxylin-Heidenhain, Hansensches

Hämatoxylin und Methylgrün. Zu einem besondren, später zu besprechenden Zweck habe ich die Nucleolenfärbung nach Montgomery und nach Obst gemacht.

b) Befunde.

Bevor ich zu der Beschreibung meiner Befunde übergehe, möchte ich hervorheben, daß dieselben in den Hauptzügen in meiner vorläufigen Mitteilung (35) dargestellt worden sind und daß ich schon damals auf die große Übereinstimmung meiner Befunde mit denen von Lundegardh hingewiesen habe. Lundegardhs vorläufige Mitteilung erschien zwar schon im Jahre 1910 in einer schwedischen Zeitschrift, ich bekam aber erst Kenntnis von ihr, nachdem meine eigenen Untersuchungen schon abgeschlossen waren und bin unabhängig von diesem Autor zu meinen Ergebnissen gekommen. Inzwischen ist auch die ausführliche Arbeit Lundegardhs (24) erschienen, die aber in bezug auf tatsächliche Befunde nur eine Bestätigung und ausführlichere Besprechung der im Jahre 1910 bereits mitgeteilten enthält.

1. Metaphase.

Bei der Besprechung meiner Befunde möchte ich von dem Stadium der Metaphase ausgehen, da hier die Verhältnisse am meisten klar und deutlich liegen. In diesem Stadium begegnen uns die Chromosomen von Anfang an, d. h. vom Moment der Auflösung der Kernmembran ab, in Form von Doppelstäbchen, die ohne irgend eine Zwischensubstanz nebeneinander liegen. Beide Stäbchen haben gleiche Größe, gleiche Dicke und in den meisten Fällen gleiche Orientierung und gleiche Form. In seltenen Fällen ist eines der beiden Schwesterstäbchen in der Form von andern abweichend. Z. B. an einem Ende gebogen, während das andre gestreckt ist, oder in seiner ganzen Länge schwach gekrümmt (Fig. 1). Auch die längsgespaltenen Chromosomen als Ganzes betrachtet, zeigen keine wesentlichen Abweichungen von einander, was Größe und Dicke anbetrifft. Die Spalthälften befinden sich in Superposition. Selten und jedenfalls nicht in der meristematischen Zone, sieht man, daß die Chromosomen wirklich eine Äquatorialplatte bilden, d. h. in eine Ebene zu liegen kommen. Das scheint im Zusammenhang mit dem raschen Ablauf der Teilungen zu stehen. Es fehlt eben die Zeit, um die Äquatorialplatte vollständig auszubilden. Vielmehr sieht man oft an demselben Bild noch letzte Übergänge aus der Prophase und Zeichen bereits beginnender Anaphase. Ersteres dokumentiert sich in der Orientierung der Doppelstäbchen mit ihrer Längsachse parallel den Spindelfasern, so wie es für die späte Prophase typisch

ist (Fig. 1 unten). Der Übergang in die Anaphase macht sich in der zunehmenden Entfernung der beiden Stäbchen von einander bemerkbar (Fig. 1 links). In der Aufsicht scheinen die Chromosomen ganz homogen, die Querschnitte zeigen eine dunkeltingierte Außenschicht, die überall dieselbe Dicke hat und ringförmig eine helle zylindrische Zone (Fig. 4a) umgibt. Die Zahl der längsgespaltenen Chromosomen betrug in den für die Zählung günstig gelegenen Fällen immer 16. manchmal zeigten die einzelnen Metaphasenchromosomen eine Unterbrechung, meistens in der Mitte des Chromosoms. Sie kommt aber nicht regelmäßig vor. vielleicht ist sie einfach durch Fixierungsmitteleinwirkung verursacht (Fig. 2 rechts).

2. Diskussion über die Metaphasenstrukturen.

Trotz der relativ einfachen Verhältnisse in der Metaphase herrschen auch über dieses Stadium untereinander nicht vereinbare Meinungsverschiedenheiten, und zwar über sehr wesentliche Momente. Meine Befunde zeigen zweifellos einen Doppelbau der Metaphasenchromosomen, und zwar treten die Chromosomen schon als Doppelelemente in die Metaphase ein. nicht aber werden sie hier zu solchen, wie es Bonnevie und Merriman (26) beschreiben (an demselben Objekt, *Allium cepa*). Bonnevie schildert, wie erinnerlich, für das Metaphasenstadium oder ein unmittelbar davorstehendes einen besondren, durch die Teilung der Chromosomenachse eingeleiteten Teilungsvorgang der Elemente. Ich konnte an meinen besten *Allium*-Präparaten auch auf ebenso dünnen und ebenso gefärbten Schnitten, wie die Bonnevies es waren, unter Benutzung der stärksten Vergrößerung (Oc. 18), auch bei Untersuchung in monochromatischem Licht Gebilde, die mit einer Chromosomenachse sich identifizieren ließen, absolut nicht unterscheiden.

Merriman (26) sagt, ohne näher darauf einzugehen, die Spaltung der Chromosomen erfolge nach Auflösung der Kernmembran. Dabei bildet sie aber die Prophasenchromosomen (noch in der Kernvacuole eingeschlossen) als Paare von Stäbchen mit sehr deutlichem Zwischenraum ab. Dieser wird aber von Merriman nicht als Längsspalte zwischen zwei Chromosomen, sondern als Längslichtung, die in einem Chromosom auftreten soll, aufgefaßt[1]).

---

[1]) Diese Deutung ist offenbar unter dem Einfluß der theoretischen Vorstellungen Merrimans von dem Bau der Chromosomen entstanden. Merriman nimmt an, daß in dem Ruhekern das Chromatin in Körnchen zerlegt wird. In der Prophase ordnen sich die so entstandenen Körnchen zu vieren in Tetraden, wobei je eines an jeder Ecke eines Quadrats lokalisiert ist. Eine Reihe solcher Tetraden hintereinander geschaltet

Grégoire (15) und Němec (31) stimmen darin überein, was auch mit meinen Befunden im Einklang ist, daß die Chromosomen schon längsgespalten in die Äquatorialplatte eintreten, obwohl sie über den Moment und das Stadium, in dem die Spaltung erfolgt, verschiedener Meinung sind, wie es an entsprechenden Stellen noch näher erörtert wird.

Eine paarige Anordnung der längsgespaltenen Chromosomen, ebenso eine sehr genaue Einordnung der Metaphasenchromosomen in eine Ebene, wie es bei andern Pflanzen beschrieben wurde, z. B. von Müller (29) bei *Nayas marina*, konnte ich bei *Allium* nicht feststellen.

3. Anaphase.

Das Auseinanderweichen der Chromosomen beginnt, wie schon erwähnt, sehr früh in der Metaphase. Die Trennung der Chromosomen geht für gewöhnlich von einem Ende aus, das andere bleibt mit dem des Schwesterchromosoms längere Zeit zusammenhängend (s. Fig. 1 links). Aus dieser Art des Auseinanderweichens könnte man für die Mehrzahl der Fälle auf eine terminale Befestigung der Spindelfasern schließen. Direkt läßt sich eine solche schwer feststellen wegen der großen Zahl der Spindelfäserchen und der Zartheit dieser Gebilde. Ich habe auch keine für die Darstellung der achromatischen Figuren specifische Färbung gemacht. Auch die

bilden das Prophasenchromosom. Im Laufe der Prophase verschmelzen die Körnchen, die hintereinander angeordnet sind, zu einer ganzen Reihe. Zwischen den Körnchenreihen sollen die oben besprochenen Längslichtungen in den Prophasenchromosomen entstehen. In der späteren Prophase verschmelzen auch die an einer Seite des Quadrats gelegenen Körnchen untereinander, ihre Substanz wird ausgehöhlt, sie bilden nun einen Halbring, die ganze Reihe der hintereinander befindlichen Körnchen aber eine Halbröhre, welche das Tochterchromosom repräsentiert. Diese Halbröhren ergänzen sich zu ganzen Röhren und diese werden in der Metaphase voneinander entfernt. Nunmehr erfolgen dieselben Prozesse im rückläufigen Sinne. Die einheitliche tubuläre Struktur der Anaphasenchromosomen erfährt einen Zerfall in hintereinandergeordnete Ringe, diese wiederum wandeln sich in Tetraden um. Die Körnchen der Tetraden verlieren ihren Zusammenhang untereinander und kommen frei ins Kerninnere zu liegen. Durch Anastomosen entstehen die Ruhestrukturen. Das Schematische dieser Auffassung leuchtet ohne weiteres ein. Diese Theorie wurde von Grégoire (15) einer gründlichen Kritik unterworfen. Ich möchte daher hier nicht weiter darauf eingehen, sondern nur auf die Unzulänglichkeit der oben angeführten Deutung der Längsspalte als Längslichtung hinweisen. Wäre nämlich die in Merrimans Figuren abgebildete Längsspalte wirklich bloß eine Längslichtung, so müßte man, um ihr regelmäßiges Vorhandensein in den Chromosomen erklären zu können, annehmen, daß man diese immer in der Seitenansicht zu Gesicht bekommt, denn bei jeder Kantenstellung würde eine Längslichtung nicht zu sehen sein. Ebenso müßte man sich die Chromosomen als absolut starre und sehr regelmäßig gebaute Gebilde vorstellen, denn sonst würden unbedingt Verschiebungen der vier Körnchenreihen auftreten, die auch die Längslichtung zum Verschwinden bringen würden.

meist beobachtete Stäbchenform der Anaphasenchromosomen würde für die terminale Befestigung der Spindelfasern sprechen, während das gelegentliche Vorkommen der Schleifen- und Hakenform jeweils eine Insertion der Fäden in der Mitte (Schleifenform) oder zwischen Mitte und Ende (Hakenform) des Chromosoms vermuten ließe, wenn man es überhaupt für gerechtfertigt hält, aus der Chromosomenform einen Schluß auf die Spindelfaserinsertion zu ziehen. Jedenfalls kann diese nicht die einzige Ursache für das Entstehen der Chromosomenform sein, denn eben dieselben Stäbchen, Haken und Schleifen wie in der Anaphase, findet man auch in der Metaphase und in der späten Prophase, Stadien, in denen der Zug der Spindelfasern nicht in Betracht kommt (Fig. 38).

Das Aussehen der Chromosomen bleibt zunächst noch unverändert (Fig. 3); es gleicht vollkommen dem, das jede Hälfte der Metaphasenchromosomen dargeboten hat. In der Seitenansicht erscheinen die Chromosomen ganz homogen. Die Querschnitte zeigen dagegen eine innere Differenzierung genau entsprechend derjenigen, die wir an den Querschnitten jeder Hälfte der Metaphasenchromosomen gesehen haben (Fig. 4a). Es läßt sich nämlich auch hier deutlich eine dunkle ringförmige Oberflächenschicht, die eine helle Innenzone umgibt, unterscheiden. In der späteren Anaphase ändert sich aber das Aussehen des Chromosomenquerschnittes. Er ist in seiner hellen Innenzone größer geworden und ist nicht mehr rund, sondern polygonal, wobei die Seiten des Polygons nicht gleichmäßig dick sind. Das Chromatin ist vielmehr an einzelnen Stellen stärker angehäuft, auf den dazwischen liegenden Strecken dagegen vermindert (Fig. 4b, 7, 8). Es geht also eine Verschiebung des Chromatins, das vorher ganz gleichmäßig über die Oberfläche des Chromosoms verteilt war, vor sich.

4. Diskussion der Anaphasenstrukturen.

In dem Stadium der Anaphase wurde von manchen Autoren das Auftreten einer »Längsspalte« beschrieben. Die Frage nach dem Vorhandensein oder Fehlen einer solchen hat eine gewisse Bedeutung, insofern Grégoire (16) und seine Schule sie in der Anaphase der somatischen Zellen in Abrede stellen, dagegen in der Anaphase der ersten Reifungsteilung als immer vorhanden und daher zu den heterotypischen Charakteren gehörig betrachten.

Als entschiedenster Verfechter der Anaphasenspalte ist Dehorne (7) zu nennen. Tatsächlich spricht die Mehrzahl der Schleifen, die in Dehornes Figur 21 abgebildet sind, für das Vorhandensein einer Längsspaltung. Ich kann demgegenüber nur betonen, daß mir niemals der-

artige Bilder zu Gesicht gekommen sind und daß daher die einzige Figur Dehornes meine gegenteiligen Befunde nicht entkräften kann[1]).

Dieser Standpunkt wird auch durch die Tatsache gestützt, daß Bonnevie (1), wie sie selbst angibt, nur ausnahmsweise eine Spalte in den Tochterchromosomen gefunden hat und auch nur in einer einzigen Abbildung (Fig. 79) diese Erscheinung registriert.

Merriman (26) sieht in den Anaphasenchromosomen immer eine »Längslichtung«. Aus den oben dargelegten Gründen (siehe S. 352) dürfte jedoch auch dieser Behauptung Merrimans kein Gewicht beizumessen sein.

Lundegardh (24) sagt, die Anaphasenspalte wäre ebenso deutlich wie die Prophasenspalte. Von den Figuren, mit welchen Lundegardh diese Anschauung belegt, ist aber die Figur 9 seiner vorläufigen Mitteilung nach der gebräuchlichen Nomenklatur sicher als Telophase zu bezeichnen und die Figur 10a bedeutet, wenn sie wirklich den Anschnitt eines Anaphasenkerns darstellen sollte, der Lagerung der Chromosomen nach eine unregelmäßige, vielleicht verzögert ablaufende Mitose. In seiner ausführlichen Arbeit hat Lundegardh keine einzige Anaphase abgebildet. Wenn er also in dem einzigen für seine Anschauungen sprechenden Beispiel in Wirklichkeit eine Telophasenspalte dargestellt hat, und wenn auch ich, wie wir sehen werden, in der Telophase regelmäßig eine Duplizität der Chromosomen gefunden habe, so ist der Gegensatz zwischen Lundegardhs und meiner die Anaphasenspalte betreffenden Auffassung doch nur ein scheinbarer.

Wenn ich in Vorstehendem schon bemerkt habe, daß ich eine Telophasenspalte, wenn man so sagen darf, beschreiben werde, so erhellt daraus, daß ich dem gelegentlichen Auftreten einer Anaphasenspaltung keine prinzipielle Bedeutung zuerkenne. In einem solchen Falle würde es sich eben um den vorzeitigen Eintritt einer gewöhnlich in die Telophase fallenden Erscheinung handeln.

Schließlich verdient noch Dehornes Theorie von der »Division und Subdivision« Berücksichtigung. Ohne auf diese Anschauung näher einzugehen, sei nur bemerkt, daß ihr nicht nur die Annahme einer Spaltung, sondern auch einer Paarung der gespaltenen Chromosomen in der Ana-

[1]) Der in Fig. 6 wiedergegebene im Anaphasenstadium befindliche Kern zeigt Chromosomen, die wahrscheinlich infolge von Vacuolisierung längsgespalten erscheinen. Es ist das aber eine Ausnahmeerscheinung, denn regelmäßigerweise treten solche Veränderungen erst an den Telophasenchromosomen auf, und wir haben es daher mit einer beim normalen Ablauf der Mitose nicht in diese Phase gehörigen, also verfrühten Vorgang zu tun.

phase zugrunde liegt. Diese beiden Momente sollen die Abbildungen Dehornes veranschaulichen. Ebenso wenig, wie ich mich von dem regelmäßigen Vorhandensein der Längsspalte überzeugen konnte, fand ich jemals eine deutliche Paarung der Anaphasenchromosomen. Eine solche könnte möglicherweise dadurch vorgetäuscht werden, daß die enge räumliche Beziehung zwischen den einzelnen Elementen hier natürlich auch manchmal je zwei in besonders enge Nachbarschaft bringt. Aber es kommen ebenso häufig isolierte Chromosomen vor und es ist vollends keine Rede davon, daß die gelegentlich »paarweise« zusammengeordneten Stäbchen von gleicher Länge wären, wie es doch die Theorie von Dehorne verlangen müßte. Damit wende ich mich zugleich gegen eine neuere Angabe von Müller, der an einigen Pflanzenarten eine paarige Anordnung der Chromosomen in somatischen Zellen beobachtet haben will, und daran theoretische Betrachtungen anknüpft, welche die Frage der »homologen« Chromosomen betreffen.

5. Telophase.

Am Schlusse der Anaphase findet eine sehr starke Kontraktion statt, die sowohl den ganzen Chromosomenkomplex, wie jedes einzelne Chromosom betrifft (Fig. 9). Dieses Stadium, das schon Hof (20) beobachtet hat, wurde von Grégoire (14) als »Tassement polaire« bezeichnet. Es scheint in dem Moment zu erfolgen, da die Tochterkerne noch vor der Bildung der Zwischenwand ihre weiteste Entfernung von einander erreicht haben (vgl. Fig. 9—12). Müller hat dieselbe Erscheinung bei *Nayas marina* gesehen. Während dieser Periode lassen sich irgendwelche feinere Strukturen an dem Chromosomenballen nicht erkennen. Wenn sich aber im weiteren Verlaufe der Telophase, welcher die beiden Tochterkerne nun wieder einander nähert, einzelne Chromosomen von dem fast kugelrunden Ballen, den sie im Tassementstadium gebildet hatten, ablösen, sieht man an ihnen deutlich eine Verteilung der chromatischen Substanz auf zwei Fäden (Fig. 10). Die beiden Fäden ziehen bald parallel nebeneinander, wobei ihr gegenseitiger Abstand wechselt und auch streckenweise eine völlige Aneinanderlegung vorkommt, bald kreuzen sie sich und trennen sich dann wieder oder sie bilden mehr oder weniger dichte spiralige Windungen umeinander. Die Zwischensubstanz erscheint hell. Die beschriebenen Chromatinanordnungen treten bei fortschreitender Telophase in jedem Chromosom hervor. Alle sehen jetzt wie aufgelockert aus, wie von hellen, verschieden geformten Lücken durchbrochen (Fig. 11, 12). Diese Lücken sind von chromatischer Substanz begrenzt, welche Fäden von ungleicher Dicke darstellt. Geht man bei stärkster Vergrößerung an

eine genaue Analyse des Bildes, so läßt sich an dem zunächst schwer analysierbaren Netzwerk, das jedes Chromosom zeigt, deutlich eine Orientierung des Chromatins auf zwei Hauptzüge feststellen.

Die Verteilung des Chromatins wird allmählich regelmäßiger, sodaß am Schlusse der Telophase in jedem Chromosom zwei chromatische Fäden erscheinen. In derselben Zeit entsteht auch die Kernmembran (Fig. 12). Die beiden aus einem Chromosom entstandenen Fäden gleichen sich in bezug auf Länge und Dicke vollkommen. Kleine chromatische Anschwellungen (Fig. 13) der Fädchen sind wahrscheinlich die Ausgangspunkte für Anastomosen, die in diesem Stadium der späten Telophase gebildet werden (Fig. 14, 15). Dieselben entstehen sowohl zwischen den Fädchen, den Tochterchromosomen selbst, wie zwischen den Fäden der benachbarten Chromosomen. Die Ausbildung der Anastomosen ist das erste Zeichen des Überganges der Telophasenkerne in die Ruhekerne. Zu gleicher Zeit ändert sich die Form des Kernes. Die Telophasenkerne haben zuerst beinahe Kugelform, die an dem von der Schwesterzelle abgewandten Pol eine tiefe Impression trägt (Fig. 13, 14, 15). In späteren Stadien wird die Kernform oval immer mit der sehr deutlichen polaren Impression, sodaß die Längsschnitte dieser Stadien bohnenförmig aussehen (Fig. 15). Erst beim Übergang in den Ruhekern wird die polare Aushöhlung ausgeglichen und eine mehr runde Form angenommen (Fig. 16).

6. Diskussion über die Telophasenstrukturen.

In das Stadium der Telophase verlegt Bonnevie (1) die Ausbildung zunächst der spiraligen chromatischen Leisten, die im Laufe der Telophase mit dem Schwinden der achromatischen Substanz, die im Innern des Chromosoms gelegen war, zu einem freien spiraligen Faden umgewandelt wird. Die ersten Anlagen dieser Bildungen sollen schon im Tassementstadium vorliegen. Meine Bilder sowie die von Grégoire ([15], Fig. 1) und Némec ([31], Fig. 9) zeigen, daß die Chromosomenkontraktion hier so stark ist, daß eine Unterscheidung von Strukturen in diesen Stadien nicht möglich ist. Wie oben besprochen wurde, liegt der Beginn der Veränderungen in der Verteilung der chromatischen Substanz in der Anaphase, in dem Tassementstadium gehen zweifellos die Veränderungen weiter vor sich, sonst würde ja die Struktur der Telophasenchromosomen, die aus dem Tassementstadium hervorgehen, derjenigen der Anaphasenchromosomen vollständig gleich sein.

Ein Vergleich zwischen den Bildern Bonnevies ([1], Fig. 40—47, 57—62) und den meinigen (Fig. 9—15), sowie denen von Grégoire ([15], Fig. 23), von Dehorne ([7], Fig. 23—24) und von Lundegardh ([24],

Fig. 54—58) zeigt, daß Bonnevie wohl unter dem Einfluß ihrer Theorie die komplizierte Wirklichkeit in ihren Bildern nicht immer ganz zum Ausdruck gebracht hat. In den Fällen, wo die von Bonnevie gebrachten Bilder die tatsächlichen Verhältnisse, wie ich sie beobachtet habe, wiedergeben, widersprechen sie ihrer Annahme von der Entstehung eines spiraligen Fadens aus jedem Telophasenchromosom. So läßt sich z. B. ihre Fig. 77 unmöglich als Querschnittsbild der Windungen eines spiraligen Fadens erklären. Es ist natürlich nicht zu erwarten, wie dünn die Schnitte auch sein mögen, daß man den Querschnitt des spiraligen Fadens genau als einen Punkt treffen wird. Man muß schon eher Halbringe als Ausdruck einer Windung erwarten, da diese letzten, wie es aus Längsschnitten zu ersehen ist (Fig. 40—44, 57—59), nicht sehr dicht disponiert sind. Aber daß ein spiraliger Faden ganze geschlossene Konturen, wie sie Bonnevie (Fig. 77) zeigt, bildet, ist schwer zu erklären. Die Querschnittsbilder dieser Stadien in meinen Präparaten zeigen in früheren Stadien geschlossene Polygone mit unregelmäßig dicken Seiten, was der ungleichmäßigen Verteilung der chromatischen Substanz entspricht (s. Fig. 7, 8, die eine völlige Übereinstimmung mit Bonnevies Fig. 76, 77 zeigt). In späteren Stadien sind sie schwer zu analysieren, da zwischen den beiden ausgebildeten Fäden Anastomosen entstehen. In günstigen Fällen kann man die Querschnitte der beiden Fädchen als zwei Punkte eine Strecke weit durch Heben und Senken der Mikrometerschraube verfolgen (Fig. 18), bis sie sich zu scheinbar einem Faden vereinigen oder bis wieder Anastomosen das Querschnittsbild verändern.

Bonnevies Längsschnittbilder widersprechen ihren theoretischen Annahmen noch mehr. Wenn man nämlich die Telophasenbilder Bonnevies (Fig. 41 a und b, 43, 44, 58) genauer anschaut, wird man sich leicht überzeugen können, daß manche Chromosomen zwei Spiralen enthalten. Z. B. kann das vierte Chromosom von links der Fig. 43 ebenso wie das fünfte Chromosom derselben Figur viel zwangloser durch die Annahme von zwei in derselben Richtung laufenden Spiralen erklärt werden, als durch die Annahme einer einzigen, die dann, um diese Spiraltouren zu bilden, auf der dem Beschauer abgewandten Seite des Chromosoms ihren Weg rückläufig machen müßte, um an der Vorderseite an derselben Stelle zu erscheinen, wo die untere Spirale ihren Ausgang nimmt.

Bonnevie macht selbst das Zugeständnis, in manchen Fällen entstünden aus einem Chromosom zwei Spiralen (Bonnevie [1], Fig. 42 links). Wenn man aber die oben erwähnten Fälle berücksichtigt, so scheint es sonderbar, daß prinzipiell verschiedene chromatische Strukturen so oft neben einander vorkommen sollen. Bedenkt man ferner noch, daß

man selbst unter der Voraussetzung einer ganz getreuen Wiedergabe der BONNEVIEschen Befunde erst bei einer viel größeren Anzahl von Beobachtungen, als sie bei cytologischen Arbeiten aus äußeren Gründen gemacht werden, entscheiden könnte, welche von beiden Formen die häufigere und damit die typische ist, so muß man doch sagen, daß die Chromatinspiralentheorie auf keiner besonders festen Grundlage beruht. Wäre die Bildung einer Spirale in dem Telophasenchromosom ein gesetzmäßiger Vorgang, so könnten nicht in einem Kern einfache und doppelte Strukturen nebeneinander vorkommen. Die prinzipielle Bedeutung dieses Unterschiedes scheint BONNEVIE entgangen zu sein. Wie erwähnt, begnügt sie sich damit, das Vorkommen von Doppelstrukturen neben den einfachen zu konstatieren, ohne auf diese doch sehr auffallende Tatsache näher einzugehen.

In ihrer letzten Arbeit, die eine Auseinandersetzung mit den Anschauungen von VEJDOVSKY enthält, geht BONNEVIE (4) sogar noch weiter. Sie findet, daß ihre Angabe über das Entstehen einer Spirale in den Telophasenchromosomen »auch von SCHNEIDER (1910) für die Salamanderlarve aufs schönste bestätigt wurde. Ein Unterschied unsrer Befunde ist nur (von mir gesperrt) darin zu sehen, daß SCHNEIDER in jedem Chromosom zwei spiralige Miten annimmt«. Dieser Unterschied ist aber von grundsätzlicher Bedeutung, denn nach SCHNEIDER würde die Zweiteilung des Chromatins und die Entstehung der jungen Chromosomen aus dem Mutterchromosom ein telophasischer Vorgang sein, im Gegensatz zu der bisher herrschenden, auch von BONNEVIE vertretenen Annahme, daß diese Vorgänge an die Prophase gebunden sind[1]). Die Befunde SCHNEIDERS (34) an Zellen der Salamanderlarven gleichen also ganz meinen eignen Beobachtungen über die Doppelstruktur der Telophasenchromosomen und sprechen wie diese nicht für, sondern gegen BONNEVIE.

An derselben Stelle fährt BONNEVIE (4) weiter fort (S. 437 Anm.): »Ich konnte in vielen (von mir gesperrt) Fällen, sowohl in Telophasen- als auch Prophasenbildern dem alten Chromosom entsprechend nur einen einzigen Spiralfaden wahrnehmen. Neben diesen ganz klaren Bildern habe ich zwar auch einige gefunden, die sich nur als zwei umeinandergewundene Spiralfäden deuten ließen«. In diesen Zeilen wird, wie es scheint, der Standpunkt, den BONNEVIE in der Frage nach der Chromosomengenese eingenommen hat, nicht mehr mit solcher Entschiedenheit vertreten, wie

---

[1]) Gegenüber der wichtigen Entscheidung, ob zwei oder ein Faden vorliegen, scheint mir die Frage nach der Form dieser Fäden, ob es Spiralen sind oder gestreckte Fäden, ob sie anastomosieren oder nicht, nebensächlich.

in den beiden Arbeiten über *Allium*, die doch die Ausbildung einer einzigen Spirale als einen ganz gesetzmäßigen Vorgang dargestellt haben (Bonnevie [1], 3).

Grégoire, dessen Telophasenbilder mit den meinigen eine große Übereinstimmung zeigen (vgl. Grégoire [15], Fig. 2 und meine Fig. 11—15), begnügt sich damit, für die Chromosomen der Telophasenstadien einen Alveolisierungsprozeß festzustellen. Diese Annahme mag richtig sein. Die Telophasenchromosomen bieten tatsächlich ein Bild, wie es Grégoire beschreibt, aber das Resultat des Prozesses, von welchem die alveolisierten Chromosomen Grégoires sozusagen eine Momentaufnahme bilden, hat er außer acht gelassen. Das Resultat ist, wie es mit zweifelloser Deutlichkeit aus meinen Bildern in Einklang mit denen von Lundegardh (23, 24) und Dehorne (7) hervorgeht, eine ganz genau durchgeführte Verteilung des Chromatins auf zwei Fäden.

Ebenso wie die Telophasenbilder Grégoires scheinen mir die Bilder von Cl. Müller ([28], Fig. 31—34), welche die Telophase von *Najas marina* darstellen, für eine Zweiteilung der Substanz jedes Chromosoms zu sprechen. Müller (28) selbst betrachtet sie ähnlich wie Grégoire lediglich als Ausdruck einer Alveolisierung. Er gibt aber selbst zu (S. 19), »daß bei der Alveolisierung der einzelnen Chromosomen zuweilen Anordnungen der Chromatinkörnchen zustande kommen können, die entfernt dann wirklich an Längsspaltungen erinnern mögen«. Weitergehende Ähnlichkeiten sollen sich aber nicht finden lassen. Ein paar Zeilen vorher weist dabei Müller selbst auf seine Fig. 34 und 2 hin, von denen die erste eine Telophase und die zweite eine Prophase repräsentieren und bezeichnet sie als »besonders instruktiv« in bezug auf »typische Übereinstimmung der Anfangs- und Endstadien der Teilung«. Dieselbe Übereinstimmung existiert aber auch zwischen Fig. 33 und Fig. 11 und 12 und nur eine vorgefaßte Meinung kann unterscheiden, ob es sich in einem Falle (Prophase, Fig. 11, 12) um wirkliche Längsspaltung, im andern (Telophase, Fig. 33, 34) um eine zufällige Anordnung der Chromatinkörnchen bei der Alveolisierung handelt. Es ist nicht zu verstehen, warum Müller ganz gleiche morphologische Erscheinungen verschieden deuten will. Diese Telophasen- und Prophasenbilder, wie man sie hier sieht, werden wohl auf gleiche Weise durch zweireihige Anordnung der chromatischen Substanz zustande kommen.

Schließlich möchte ich noch auf die Arbeit von Fraser und Snell (11) hinweisen, die auch in ihren Abbildungen die Ausbildung zweier chromatischer Fäden in den Telophasen der somatischen Zellen von *Vicia faba* illustrieren (Fig. 5—8).

7. Intermediär- und Ruhekerne.

Der Übergang in die Ruhestruktur manifestiert sich in der weiteren Ausbildung der oben (S. 357) erwähnten Anastomosen. Allmählich verwischt sich jeder Unterschied zwischen ihnen und den ursprünglichen Fädchen und der ganze Kern ist von einem feinen, einzelne größere Chromatinanhäufungen enthaltenden Netzwerk erfüllt (Fig. 21, 22)[1]. Von diesen typischen Ruhekernen weichen die zwischen zwei Teilungsschritten eingeschalteten »Intermediärkerne« (Lundegardh) ab (Fig. 19 u. 20). Sie lassen nämlich in ihrem Netz gewisse Züge unterscheiden, die paarweise angeordnet sind. Diese Hauptzüge heben sich als deutlichere, vielleicht dickere Fäden vom übrigen Netzwerk ab. Man trifft in den Ruhekernen des Meristems bald mehr, bald weniger solcher paarweise und meist

---

[1]) Die Ausbildung des Netzes und sein Aussehen sind verschieden, je nach der Fixierungsflüssigkeit (wie schon oben erwähnt, werden die Ruhestrukturen durch die Fixierung am meisten alteriert) und je nach der Schicht der Wurzelspitze, der sie angehören, d. h. je nach der Zeitdauer, die das Chromatin zur Ausbildung der Ruhestruktur zur Verfügung hat. Es sei hier gleich vorgreifend bemerkt, daß die im Meristem befindlichen Kerne bei allen Fixierungen ihren Aufbau aus den Telophasendoppelfäden erkennen lassen, was aber noch eingehender besprochen wird.

Die Fixierungslösung nach Bouin hat die Ruhekerne durchweg schlecht fixiert. Die Plerom-, Periblem- und Dermatogenkerne zeigten aufgequollene, mehr fädige als netzartige Struktur. Wahrscheinlich werden dabei die zarteren Anastomosen zerrissen, so daß die Netzstruktur nicht wiedergegeben wird. Carnoy- und Gilson-Fixierungen verursachen das Hervortreten gröberer Klumpen mitten in dem Fadenwerk des Kernes. Die Kerne der äußeren Schicht der Wurzelspitze, die Dermatogenkerne erschienen viel dichter gebaut, also chromatinreicher als die Plerom- und Periblemkerne. Die besten Resultate ergab die Fixierung mit dem Flemming-Gemisch, halb verdünnt (Fig. 22—24) und mit Sublimateisessig (Fig. 21). Diese beiden Fixierungsmittel gaben sehr feine Bilder. Dabei machte auch ich die Beobachtung, die schon Merriman angeführt hat, daß das Flemming-Gemisch eine Körnelung der chromatischen Substanz in allen Teilungsstadien und in allen Wurzelschichten bedingt. So schienen bei Flemming-Fixierung die Pleromkerne (Fig. 22) ziemlich grobe Brocken und Granulationen zu enthalten. Die Periblemkerne (Fig. 23) zeigten neben einer feinen, fädig-netzigen Struktur auch feine Chromatinklümpchen. In den Dermatogenkernen (Fig. 24) war das Chromatin sehr gleichmäßig im Kern verteilt, durchweg feinkörnig, ohne gröbere Klumpen. Die späteren Stadien, so die Prophasen und Metaphasenchromosomen erscheinen auch nicht homogen (Fig. 25), meist unregelmäßig konturiert, manchmal allerdings in nicht ganz einwandfreien Präparaten quer segmentiert. Dagegen zeigten die mit Sublimat fixierten Wurzelspitzen einen mehr homogen-fädigen Charakter ihrer Strukturen (Fig. 21). In allen Wurzelschichten waren die Ruhekerne gleichmäßig fädig-netzig gebaut, ohne die bei Flemming-Fixierung eintretende Körnelung aufzuweisen. Auch die fertig ausgebildeten Chromosomen zeigen ein homogenes Aussehen mit ganz glatter Oberfläche (Fig. 29, 33).

parallel angeordneter Züge, je nachdem ob mehr oder weniger zahlreiche Anastomosen den Parallelismus der Fädchen verwischen. aber zum minnesten ein oder zwei solche Doppelfädchen sind immer noch deutlich in dem Netz des Ruhekerns unterscheidbar (Fig. 17, 19, 20). Es scheint bei der raschen Aufeinanderfolge der Teilungen hier die nötige Zeit zu fehlen, um eine ganz gleichmäßige Verteilung des Chromatins von den Telophasenfädchen auf die Anastomosen durchzuführen, denn bevor noch alle Anastomosen gebildet worden sind, beginnt schon deren Rückbildung und der Kern geht in das Prophasenstadium über (Fig. 26). Bemerkenswert ist es auch, daß in der meristematischen Zone die Ruhekerne nicht merklich an Größe zunehmen. Es scheint, daß in diesem Stadium keine energische Vermehrung der chromatischen Substanz vor sich geht. So verhält es sich bis in die Prophase hinein, wo dann mit dem Wachstum des Kerns die chromatischen Strukturen sehr intensiv an Masse zuzunehmen scheinen.

8. Diskussion über die Ruhestruktur.

Der Unterschied zwischen den Ruhekernen in der meristematischen Zone (Intermediärkernen) und denen in den weiter von der Wurzelhaube entfernten Zonen der Wurzelspitze ist von fast allen Autoren beachtet und eingehend beschrieben worden, so von Bonnevie (1), Grégoire (13, 15), Lundegardh (23, 24) für *Allium*, von Müller (29) für *Najas*, von Martins Mano (25) für *Solanum tuberosum* und *Phaseolus vulgaris* u. a., immer in dem Sinn, daß die Meristemruhekerne mehr oder weniger die Struktur der Telophase behalten und bis in die Prophase der nächsten Teilung überführen. Gemäß der verschiedenen Auffassung der Telophasenstrukturen müssen die Anschauungen der Autoren auch hier auseinander gehen.

Bonnevie (1) läßt das Ruhekernnetz durch Anastomosen zwischen den einzelnen Spiralen entstehen. Hiergegen kann ich auf meine Telophasenbilder hinweisen, die eben nicht einzelne, sondern doppelte Fäden zeigen und auf die Besprechung der Bonnevieschen Befunde bei der Diskussion über die Telophasenstrukturen.

Die Umwandlung des achromatischen Teiles, des Anaphasenchromosoms, die sie in ihren Saffraninpräparaten Schritt für Schritt verfolgen konnte (Fig. 40—46) bis zur vollständigen Auflösung im Kernsaft habe ich nicht so genau sehen können, obwohl ich auch Saffraninpräparate und sehr dünne Schnitte zum Studium dieser Umbildungen benutzt habe. Ich habe vielmehr, wie ich es bei der Besprechung der Telophasenstruktur beschrieben habe, die Zwischensubstanz, die vom Moment der Ausbildung

der beiden chromatischen Fädchen ab zwischen denselben sichtbar wird, sehr bald noch lange vor der Ausbildung des Ruhekerns farblos gefunden (Fig. 12—17). Ich möchte mich auch bezüglich dieser hellen Zwischensubstanz jedes Urteils enthalten. Es läßt sich nicht entscheiden, ob sie ein farbloser Bestandteil des Chromosoms ist, von diesem während der später zu besprechenden Differenzierung abgesondert, oder ob es Kernflüssigkeit ist, die in das Chromosom eindringt und so das Bild der Alveolisierung hervorruft und zu einer Verteilung des Chromatins auf zwei Fädchen führt (vgl. Anm. S. 355).

Grégoire (15), für den jedes Chromosom für sich ein durch Alveolisierung entstandenes Netz ist, betrachtet den ganzen Ruhekern als ein Netz der Netze, »Le réseau nucléaire est donc un réseau de réseaux«. Gegen diese Auffassung gelten die Einwände, die gegen die Betrachtung der Telophasenstrukturen als einfach regellos alveolisierte Chromosomen schon oben gebracht wurden. Mit ein paar Worten möchte ich auf die von Grégoire und Wygaerts ([13], Fig. 17) beschriebene Entstehungsweise der Anastamosen eingehen. Sie werden betrachtet als: »Résultat d'un phénomène analogue à celui qui se passe lorsque deux corps gélatineux, mis assez intimement en contact sont ensuite graduellement ecartés l'un de l'autre. Dans ce cas il reste entre les deux corps des filaments d'union que ne sont pas autre chose que de la substance gélatineuse étirée. De même les anastomoses ne sont que de la substance chromosomique étirée entre deux bâtonnets qui s'écartent l'un de l'autre après un contact assez étroit«. Dagegen kann ich auf meine Fig. 10 hinweisen, die gerade den Moment nach Entspannung des Tassementstadiums repräsentiert. Man sieht hier, daß die zuerst sich ablösenden Chromosomen in keinerlei Verbindung mit den andern stehen. Dieselbe Unabhängigkeit der Chromosomen unter einander geht aus der Telophasenserie (Fig. 10—14) hervor. Erst spät in der Telophase, schon nach Ausbildung der Kernmembran werden die Anastomosen entwickelt. Diese meine Beschreibung stimmt auch mit den Bildern von Grégoire und Wygaerts (13) überein. Die Fig. 3 dieser Autoren soll die Entstehung der Anastomosen als Resultat der Zusammenballung der Chromosomen in Tassementstadium illustrieren, in Wirklichkeit aber zeigt sie ein viel späteres Stadium mit schon gebildeter Kernmembran entsprechend meinen Fig. 14 und 15. Zwischen Fig. 2 und Fig. 3 (Grégoire und Wygaerts) fehlt also eine ganze Reihe von Bildern, die deutlich zeigen würden, daß die Anastomosen nicht sofort nach dem Tassementstadium entstehen (meine Fig. 10—13). Grégoire selbst bildet in einer späteren Arbeit (Grégoire [15] Fig. 2) ein Telophasenstadium ab, das tatsächlich auf das Tassementstadium unmittelbar

folgt. Es zeigt aber auch schon alveolisierte Chromosomen, die von einander entfernt sind, aber keine Anastomosen besitzen. So widerspricht dieses Bild Grégoires seiner Erklärung der Anastomosenbildung.

Gegen den möglichen Einwand, es möchten die beginnenden zarten Anastomosen durch Einwirkung der Fixierungsflüssigkeit zerstört worden sein, muß ich hervorheben, daß bei allen von mir gebrauchten Fixierungsflüssigkeiten die Chromosomen in den früheren Telophasenstadien dieselbe Unabhängigkeit von einander zeigten, und daß die Präparate sonst den Eindruck einer durchaus guten Konservierung machen. Auch waren die sehr feinen Strukturen im Chromosom selbst deutlich zu sehen [1]).

Lundegardh beurteilt den Unterschied zwischen den typischen Ruhekernen und den Telophasenkernen ebenso wie ich ihn oben dargestellt habe. Er beschreibt für den typischen Ruhekern eine Zusammensetzung aus einem »gleichförmigen Gerüst und unregelmäßig stark gefärbten Klumpen«, die in wechselnder Zahl auftreten. In der Wurzelspitze von *Allium* sieht er dagegen, wenn überhaupt dichtere Ansammsammlungen vorhanden sind. langgestreckte und häufig längsgespaltene Chromatinzüge (Fig. 1, 3). Er betont auch die Ähnlichkeit der Intermediärkerne, mit den Telophasen- und Prophasenkernen auch in lebenden Zellen. Die Interphasenkerne können offenbar ebensowohl der Prophase wie der Telophase angehören, echte Ruhekerne sind sie jedenfalls nicht[2]).

---

[1]) Nach Lundegardh (24) soll die Hermannsche Lösung, die Grégoire ausschließlich zur Fixierung seiner Präparate benutzte, Schwammgerüste künstlich hervorrufen. Man könnte vielleicht daran denken, daß durch diese Eigenschaft der Hermannschen Lösung die Anastomosen künstlich durch Auflockerung der Chromosomenränder erzeugt werden.

[2]) Lundegardh (24) ist durch den Vergleich der am frischen Objekt erhobenen Befunde mit den Resultaten verschiedener Fixierungen zu dem Ergebnis gekommen, daß die Fixierung in seinen Präparaten, selbst den besten »eine nicht unbedeutende Alteration« hervorgebracht habe.

Wenn Bonnevie (4) in der schon zitierten letzten Auseinandersetzung mit Vejdowsky auf Grund dieser Angabe Lundegardhs seine Präparate als unzulänglich bezeichnet und dadurch den Widerspruch zwischen ihren eignen Angaben und denen Lundegardhs zu ihren Gunsten entscheiden will, so hat sie die zitierte Äußerung Lundegardhs nicht richtig verstanden, denn diese besagt doch ganz allgemein, daß die wohl von allen Cytologen gehegten Bedenken gegen die Zuverlässigkeit unsrer recht groben Fixierungsmittel bei auf diesen Punkt gerichteten Erhebungen sehr berechtigt erscheinen. Die Angabe Lundegardhs betrifft also gerade so gut die Präparate Bonnevies wie seine eignen und kann daher nicht gegen die Zuverlässigkeit seiner Befunde verwendet werden.

9. Prophase.

Von den Intermediärkernen mit deutlich erhaltenen doppelfädigen Elementen der Telophase geschieht der Übergang in die Prophase auf kaum merkliche Weise. Es sind zunächst etwas mehr Doppelfädchen zu sehen, sonst sind noch reichlich Anastomosen vorhanden. Diese ganz frühen Prophasenkerne sind nur durch ihre äußere Form von den Intermediärkernen und den späten Telophasenkernen zu unterscheiden. Während die Telophasenkerne auf Längsschnitten eine polare Einbuchtung in dem ovalen Kern zeigten, sehen die Prophasenkerne gleichmäßig oval oder beinahe rund aus (Fig. 26, 28). Sonst ist die Ähnlichkeit dieser Anfangsstadien mit den Telophasenbildern so überaus groß, die gegenseitige Anordnung und der Verlauf der chromatischen Elemente so übereinstimmend, daß es kaum gewagt scheint, die Strukturen der Prophase auf diejenigen der Telophase direkt zu beziehen (vgl. Fig. 16, 17 mit 19, 20, 26). Die Weiterentwicklung der Prophase geht in der Weise vor sich, daß immer mehr Anastomosen zurückgezogen werden und dementsprechend erscheinen immer mehr doppelfädige Elemente, die unabhängig von einander das Kerninnere durchziehen (Fig. 26—28). In bezug auf die gegenseitige Anordnung der zu einem Paar gehörigen Fäden fällt auf, daß sie nun enger aneinander liegen, als in der Telophase (vgl. Fig. 12, 13 mit 27, 28). Sonst ist ihr gegenseitiges Verhalten unverändert geblieben. Bald laufen sie parallel neben einander, bald kreuzen sie sich einmal oder mehrfach, sodaß sie das Aussehen zweier umeinandergewundener Spiralen erhalten (Fig. 26 bis 28). Im Gegensatz zu den Interphasenkernen, die kein merkliches Wachstum gezeigt haben, werden die Prophasenkerne mit dem Fortschreiten der Entwicklung beträchtlich größer. Die Vergrößerung ist zunächst an der Entwicklung des Chromatins am auffallendsten. Die chromatischen Fädchen nehmen an Länge und Dicke zu (vgl. Fig. 26 mit 33). Dabei geht die Entwicklung in jedem Fädchen eines Paares mit gleicher Intensität vor sich. Die Dickenzunahme ist so beträchtlich, daß die schon von vornherein eng gewordene Längsspalte zwischen den chromatischen Fädchen oft ganz verdeckt wird (Fig. 31 u. 32). Dies ist ja auch zu erwarten, da die Dickenzunahme in beiden Fädchen gleichen Schritt hält und die Entfernung zwischen ihnen vom Anfang bis zum Schluß der Prophase, sogar bis in die Metaphase hinein nahezu konstant bleibt. Auch muß man bedenken, daß die relativ enger gewordene Spalte bei der geringsten Schiefstellung der dicken chromatischen Fäden von diesen sofort verdeckt wird, während bei einer weiteren Spalte mit dünneren Fäden es einer direkten Übereinanderlagerung der beiden Fädchen bedarf, um diese

Spalte zwischen ihnen unsichtbar zu machen. Auf Längsschnitten ist daher die Spalte (wie auch auf dickeren Schnitten) oft kaum oder nicht nachweisbar. Dagegen lassen die Querschnitte aller Prophasenstadien (Fig. 29—33) keinen Zweifel darüber, daß sie wirklich immer vorhanden ist. Besonders instruktiv sind in dieser Beziehung die Fig. 31 und 32. Hier zeigen oft nur die optischen Querschnitte der Chromosomen ihre Zusammensetzung aus zwei Elementen, während auf Längsschnitten die Chromosomen einheitlich erscheinen[1]).

Auch das Längenwachstum der Chromosomen geht sehr rasch vor sich. Bald sind die chromatischen Elemente gezwungen, ihren Weg im Zick-Zack durch die Kernvacuole zu nehmen. Ihre Anordnung scheint hauptsächlich von den Raumverhältnissen abhängig zu sein. In ovalen Kernen bilden sie in der Richtung der Längsachse langgezogene Schleifen, deren Umbiegungen in die Pole des Kernovoids zu liegen kommen. In Kernen von kreisförmigem Durchschnitt scheinen sie ganz regellos durcheinander zu liegen.

Im weiteren Verlaufe der Prophase machen die Chromosomen noch zweierlei Umwandlungen durch. Sie erfahren erstens eine innere Differenzierung. In der frühen Prophase erscheint jede Spalthälfte eines Chromosoms im optischen Querschnitt als ein Punkt (Fig. 27, vgl. auch Fig. 18). In den späteren Stadien läßt sich an ihr eine dunkel tingierte Oberflächenschicht und eine helle Innenzone unterscheiden (Fig. 29—33), eine Struktur, welche auch den Metaphasen- und Anaphasenchromosomen (s. oben) erhalten bleibt. Eine Chromosomenachse war auch hier nicht zu sehen. Hand in Hand mit dieser inneren Differenzierung geht zweitens eine Verkürzung und noch ausgesprochene Verdickung der chromatischen Elemente neben einer Ausgleichung ihrer Windungen (Fig. 29—35) vor sich[2]).

---

[1]) Fig. 34 zeigt ein Prophasenbild, einem Wurzelspitzenlängsschnitt entnommen. Es enthält den ganzen Kern. Die Mehrzahl der Chromosomen scheint hier einheitlich zu sein. Dies liegt eben daran, daß der Schnitt sehr dick ist. Die übereinander gelegenen Chromosomen verdecken die Längsspalte, die in jedem besteht. Es sind auch zufälligerweise keine Chromosomen quer getroffen, nur zwei, rechts gelegene Chromosomen zeigen beide Längshälften in weiter Spreizung, nur an den Enden zusammenhängend (ähnlich wie die unteren Chromosomen der Fig. 31). Daß jedes der hier befindlichen vier Stäbchen einer Chromosomenhälfte entspricht, und nicht etwa einem ganzen Chromosom, erweist sicher die geringere Dicke der chromatischen Elemente und deren Zählung, welche die Zahl 16 ergibt, was mit den sonstigen Befunden übereinstimmt.

[2]) Ob dieses Strecken der Chromosomen durch eine Imbibition derselben mit Kernsaft zu erklären ist, wie Bonnevie es annimmt, möchte ich nicht entscheiden.

Wenn dieser Zustand erreicht ist, erfahren die chromatischen Elemente keine Form- und Strukturveränderungen mehr. Es werden nur mehr ihre Spalthälften in der sofort folgenden Metaphase von einander entfernt. Wie Fig. 35 und 36 zeigen, sind 16 längsgespaltene Chromosomen vorhanden.

Die weiteren Veränderungen der Prophase beziehen sich nicht mehr auf die Chromosomen. Sie bestehen darin, daß die Kernmembran schwindet, die Spindelfasern eindringen und die Chromosomen in die Äquatorialplatte einrücken. Die Auflösung der Kernmembran erfolgt, wie Fig. 35 und 36 zeigen, sehr langsam. Bilder, welche die Membran auf der einen Seite noch erhalten zeigen, während auf der andern schon die Spindelfasern eingetreten sind, habe ich sehr oft angetroffen und auf das zeitliche Hinziehen dieses Prozesses bezieht sich mit großer Wahrscheinlichkeit das in dem Abschnitt Metaphase (Fig. 1) beschriebene Aussehen der meisten Äquatorialplatten. Diejenigen Chromosomen, über denen die Kernmembran am längsten stehen geblieben war, werden sich eben noch in der Prophasenstellung befinden (vgl. Fig. 1 unten mit Fig. 35), während die andern vielleicht schon in die Anaphase übergegangen sind (Fig. 1 links).

10. Diskussion der Prophasenstrukturen.

Das Prophasenstadium wurde bis jetzt als das wichtigste im Cyklus der Teilungsstadien betrachtet. An dieses sollte das Wesentliche der Teilung selbst gebunden sein: Nämlich die genaue Verteilung des Mutterchromatins auf die Tochterchromosomen der nächsten Zellgeneration. Dementsprechend wurde die Prophase auch genauer studiert, als die andern Stadien. In der Art, wie die Halbierung des Chromatins vor sich gehen sollte, sind die Auffassungen der Autoren sehr verschieden.

Nach Bonnevies (1) Beschreibung sollen in der Prophase drei Prozesse hinter einander stattfinden. An den einheitlichen Fäden der frühen Prophase soll nach Bonnevie eine Spaltung erfolgen. Die ursprüngliche Einheit der Prophasenfäden ist für Bonnevie von größter Bedeutung. Sie steht eben im prinzipiellen Gegensatz zu den doppelfädigen Prophasenstadien der ersten Reifungsteilung und bildet eines von den beiden Unterscheidungsmerkmalen zwischen den somatischen und den Reifungsmitosen. Hierzu ist zu bemerken, daß nach meinen Befunden kein Zweifel bestehen kann, daß zu Beginn der Prophase bereits Doppelfäden vorhanden sind.

Dann läßt Bonnevie, wie bei der Besprechung ihrer Befunde dargelegt wurde, die gespaltenen Fäden sich wieder vereinigen, dann schließlich nochmals teilen, wobei sie nicht feststellen kann, ob die neuen Spalt-

hälften identisch sind mit den durch die erste Spaltung entstandenen. Auch dieser Vorstellung Bonnevies muß ich widersprechen. Ich finde während der ganzen Prophase den Spalt erhalten. Auch Bonnevies Bilder, Fig. 69 und 70, sprechen für meine Ansicht, denn sie gleichen völlig den meinigen und zeigen auf den Querschnitten, die für die Beurteilung allein maßgebend sind, ebenfalls deutlich den Doppelbau. Damit kommen wir über die von Bonnevie geschaffenen Schwierigkeiten, welche die Beziehung der frühen Prophasen-Längsspalte zum definitiven Teilungsplan der Chromosomen betreffen, in einfacher Weise hinweg.

Grégoire (15) beschreibt die Chromatinstrukturen der frühen Prophase ebenso wie Bonnevie als einheitliche, d. h. nicht längsgespaltene Elemente. Jedes derselben bietet nach seiner Darstellung das Aussehen eines Telophasenchromosoms dar und besteht also wie jenes aus einem Chromatinnetz. Ein Vergleich aber der diesbezüglichen Figuren Grégoires mit den meinigen zeigt, daß die große Mehrzahl von ihnen, z. B. Fig. 9, 10, 11, 14, ebenso wie die meinigen, Prophasenchromosomen aufweisen, die ganz deutlich aus Doppelfäden oder Doppelspiralen bestehen. Es ist daher gerechtfertigt, zu erklären, daß der Unterschied zwischen meiner Auffassung und der Grégoires nur auf der verschiedenen Deutung sich ganz genau entsprechender Beobachtungen beruht. Meine Auffassung aber von der Doppelfädigkeit der Prophasen- wie auch der Telophasenchromosomen ergibt sich so ungezwungen bei der genauen Analyse dieser chromatischen Strukturen, daß ich sie unbedingt aufrecht erhalten muß. Was die späte Prophase betrifft, in der nach Grégoire einheitliche Chromosomen vorliegen sollen, so wird diese durch eine einzige, in der Fig. 19 abgebildete Zelle demonstriert. Es handelt sich hier um einen Anschnitt eines Prophasenkerns, welcher sieben Chromosomen enthält. Von diesen sind drei gegen den Beschauer zu abgebogen und die optischen Querschnitte, die dadurch zur Anschauung kommen, zeigen eine deutliche Einschnürung der Kontur, die entsprechend unseren deutlicheren Bildern (Fig. 32, 33) nur als Ausdruck der Duplizität der Chromosomen zu betrachten sind. Daher scheint mir diese Figur Grégoires keine Begründung seiner Auffassung zu liefern, sondern viel mehr dafür zu sprechen, daß die Chromosomen während der ganzen Prophase den von mir beschriebenen Doppelbau besitzen.

Was den Vorgang der Homogenisierung, den die Chromatinstrukturen bei ihren Umwandlungen aus Chromatinnetzen in definitive Chromosomen erfahren sollen, betrifft, so würde er nach Grégoires Darstellung auf zwei Wegen zustande kommen. Erstens durch Zusammenschieben und Aneinanderpressen der Lamellen des alveolisierten Prophasen-

chromosoms, bis eine vollständige Obliteration der Alveolen und somit ein homogenes Aussehen des Chromosoms erlangt wird, oder, zweitens, durch ein Hinfließen der halbflüssigen chromatischen Substanz von dünneren Lamellen zu den dickeren, was den Chromosomen das Aussehen eines dünnen, in Zick-Zack verlaufenden Fadens verleiht.

Das Gezwungene dieser Annahme ist klar, denn ist das Chromatin in diesen Prophasenstadien wircklich noch so flüssig, wie GRÉGOIRE es annimmt, dann wäre logisch zu erwarten, daß beim Zusammenfließen Ballen von chromatischer Substanz entstehen werden und nicht ein langer dünner Faden! Bezüglich der ersten Art der Entstehung von homogenen Chromosomen durch Konzentration der auf Lamellen verteilten chromatischen Substanz muß man sagen, daß sie notwendigerweise eine starke Verkürzung der chromatischen Streifen im Laufe der Prophase hervorrufen würde. Nun tritt aber eine solche erst ganz am Schluß der Prophase schon in fertigen homogenen Chromosomen auf. Im Beginn der Prophase erfolgt im Gegenteil ein ganz gewaltiges Längenwachstum der chromatischen Fäden. Was besonders auf dicken Schnitten, an den vielfachen Windungen und Umbiegungen der Fäden klar zutage tritt. Somit sind die beiden Erklärungsversuche GRÉGOIRES der von ihm richtig beobachteten und gezeichneten Prophasenbilder als durchaus unzutreffend zu bezeichnen[1]).

Der Mechanismus der Längsteilung soll nach GRÉGOIRE auf der Entstehung einer axialen Vacuolenreihe beruhen (GRÉGOIRE und WYGAERTS [13], Fig. 19, GRÉGOIRE [15], Fig. 17, 18). Die Möglichkeit dieser Art der Chromatinzweiteilung habe ich bei der Besprechung des Entstehens

---

[1]) Ich möchte noch auf die Benennung, die GRÉGOIRE zur Beschreibung der Chromatinstrukturen gebraucht, eingehen. Wenn er nämlich in der Prophase die in Bildung begriffenen Chromosomen als Chromatinstreifen und die fertigen Chromosomen der späten Prophase als Chromatinbänder (bande, ruban) bezeichnet, so erweckt er die Vorstellung, als ob diese Gebilde flach abgeplattet wären, wie er sie auch in der Tat meistens abbildet. In Wirklichkeit aber, wie die optischen Querschnitte derselben beweisen, sind es zuerst Fäden mit rundlichem Querschnitt und nachher Röhren, wenn man zum Zwecke der räumlichen Vorstellung diese Vergleiche heranziehen will. Dieser Irrtum erklärt sich dadurch, daß GRÉGOIRE nur Telophasenchromosomen auf dem Querschnitt richtig abgebildet (Fig. 12) und beschrieben, die andern Stadien aber nur auf Längsschnitten dargestellt hat.

Dann kann ich auch nicht die Vermutung unterdrücken, daß GRÉGOIRES (15) Fig. 10, die nach ihm eine Prophase repräsentieren soll, in Wirklichkeit eine Telophase ist. Wenigstens ist sowohl die Form des Kernes, wie die Anordnung der chromatischen Strukturen außerordentlich ähnlich den Bildern, die ich (Fig. 12, 13, 14, 15) und auch andre *Allium*-Untersucher, wie z. B. LUNDEGARDH (23), BONNEVIE (1) und DEHORNE (7) als Telophase abgebildet und beschrieben haben.

der telophasischen Fäden neben einer andern in Betracht kommenden bereits erwogen (s. Anm. S. 355).

Ich möchte noch auf Müllers (29) Anschauungen über die Chromosomenteilung näher eingehen, denn obwohl sie auf Grund der Untersuchungen an einem andern Objekt (*Najas marina*) gewonnen worden sind, enthalten sie eine Kritik der Lundegardhschen Feststellungen über die Zweiteilung des Chromatins in der Telophase. Müller nimmt an, die Chromosomenteilung erfolge erst in der Prophase, auf eine sehr komplizierte Weise, die ich hier nicht berücksichtigen kann. Jedenfalls bilden die Voraussetzung zu dieser Annahme einheitliche Chromosomen in der frühen Prophase. Dabei aber bildet der Autor in Fig. 2, 3 und 4, welche die beginnende Prophase repräsentieren, deutlich doppelwertige Elemente ab, die noch dazu im wesentlichen, die Duplizität des Baues betreffenden Momente eine auffallende Ähnlichkeit mit seinen Fig. 11 und 12 haben, welch letztere nach seiner eigenen Auffassung die in der späten Prophase stattfindende Längsspaltung illustrieren sollen.

Was die Kritik der Lundegardhschen Auffassung betrifft, so gibt Müller zu bedenken, daß die »kurze Dauer der Telophase« »wohl nur eine gröbere Zweiteilung der Chromosomen gestatten würde«, und daß »der langwierige Prozeß in der Prophase und die minutiösen Vorgänge der Chromosomenspaltung« (sc. in der Prophase) »keine entsprechenden Seitenstücke« in der Telophase haben. »Außerdem«, sagt Müller, »muß man die Frage aufwerfen, welche Bedeutung jener sorgfältigen schrittweisen Entwicklung der Chromosomen bei Beginn der Teilung dann zukäme, wenn ihre Spaltung bereits in der vorausgehenden Telophase stattgefunden hätte. Ferner tritt ja stets zwischen zwei Teilungen eine weitgehende Zerkleinerung der Kernsubstanz ein, die Lundegardhs Annahme noch unverständlicher macht«.

Was die beiden letzten Einwände betrifft, so hat es wohl keinen Zweck, sie zu diskutieren, denn es kommt nur auf die tatsächlichen Beobachtungen an und nicht darauf, ob wir ihnen einen Zweck zuerkennen können oder nicht. Im übrigen konnte ich eben so wenig wie Lundegardh von jener auf die Chromosomenspaltung hinzielenden »sorgfältigen schrittweisen Entwicklung« in der Prophase etwas bemerken, so daß bei *Allium* wenigstens eine in der vorausgehenden Telophase stattfindende Chromosomenspaltung nicht a priori als überflüssig zu bezeichnen ist. Auch findet, wie oben dargelegt wurde, in den Intermediärkernen gar keine »weitgehende Zerkleinerung der Kernsubstanz« statt, sondern es werden hier die telophasischen Chromatinstrukturen direkt in die Prophase übergeführt.

Die »kurze Dauer« der Telophase gegenüber der Prophase ist nicht erwiesen. Es läßt sich im Gegenteil aus der Tatsache, daß man in Schnitten durch die Wurzelspitze von *Allium* in der Regel mehr Telophasen als Prophasenstadien begegnet (ungefähr in dem Verhältnis von 3: 2) folgern, daß die Telophase längere Zeit hindurch besteht, als die Prophase. Wenn man ferner die Telophasenstrukturen genauer analysiert, so erkennt man, daß auch sie recht abwechslungsreich und kompliziert sind und daß also nicht einzusehen wäre, warum hier nicht ebensogut wie in der Prophase eine Verteilung des Chromatins auf zwei Fäden stattfinden könnte.

Auf Grund dieser seiner recht wenig gründlichen Widerlegung glaubt Müller sagen zu dürfen, daß Lundegardhs Theorie von der Zweiteilung des Chromatins in der Telophase auf sehr schwachen Füßen steht, so lange dieser Autor keine seine Anschauungen von der Duplizität der Telophasenchromosomen beweisenden Bilder bringt. Nun finden sich aber in Lundegardhs vorläufiger Mitteilung bereits einige Beweisstücke dieser Art; in seinen Figuren 2e, d, 9, 10a und besonders 10b. In seiner letzten ausführlichen Arbeit, die Müller noch nicht bekannt sein konnte, finden sich ganz eindeutige, hier in Betracht kommende Bilder in großer Anzahl.

Um nun das Resultat meiner Prophasenbefunde unter Berücksichtigung der gegenteiligen Anschaunngen kurz zusammenzufassen, will ich nochmal sagen, daß ich mit Lundegardh und Dehorne entschieden für eine Doppelwertigkeit der chromatischen Strukturen in der Prophase und zwar von Anfang an bis zum Schlusse und für einen Zusammenhang dieser Strukturen mit den Telophasenstrukturen eintreten muß.

c) Die Zahl der Chromosomen bei Allium cepa.

Bevor ich zu einer zusammenfassenden Darstellung meiner Befunde übergehe, möchte ich noch auf zwei Tatsachen hinweisen, die ich an den Wurzelspitzen von *Allium cepa* habe feststellen können. Die erste bezieht sich auf die Feststellung der specifischen Zahl der Chromosomen bei *Allium cepa*. Mit fast allen Autoren, die *Allium* untersucht haben (z. B. Mottier [28], Grégoire [15], Lundegardh [23, 24], Dehorne [7]), nehme ich als specifische Chromosomenzahl 16 an. Es ist die kleinste Anzahl der Chromosomen, die man im Laufe der Teilungen findet. Sie wurde von mir an den Anaphasenbildern festgestellt. In der späteren Prophase (Fig. 35, 36) und Metaphase (Fig. 1, 2) sind die 16 Chromosomen längsgespalten, in der Anaphase (Fig. 3 und 5) einheitlich. In der späten Telophase und in der frühen Prophase sind den beschriebenen Verhältnissen gemäß keine einwandfreien Zählungen möglich.

Ich würde auch die Frage der Chromosomenzahl nicht näher berücksichtigen, da ich in dieser Hinsicht zu keinem andern Resultate gekommen bin, wie fast alle *Allium*-Untersucher, wenn nicht in den Arbeiten von Bonnevie (1) und Merriman (26) ganz andre, viel höhere Werte angegeben wären. Auch in ihrer neueren Arbeit im Jahre 1911 besteht Bonnevie auf ihren früheren Befunden. Bonnevie zählt in der Anaphase bis 24 Chromosomen. Merriman betrachtet die Chromosomenzahl als variabel, zwischen den Werten 10—38! Und beide machen auf überaus große Schwierigkeiten, die bei der Zählung der Chromosomen zu überwinden sind, aufmerksam. Sowohl die Ungenauigkeit der Zählungen, wie auch die Schwierigkeiten, die sie bereiten, scheinen mir aber leicht erklärlich durch den Umstand, daß in beiden Arbeiten sehr dünne Schnitte (Bonnevie 2—5 μ) benutzt wurden. Es mußten die Zahlen der Chromosomen aus mehreren Schnitten zusammenkombiniert werden, wobei leicht manche Chromosomenanschnitte als selbständige Chromosomen mit in die Rechnung gezogen werden. Ich habe neben ebenso dünnen Schnitten von 3—5 μ auch solche von 25—30 μ gemacht; diese letzten enthalten die Zelle ganz und erlauben wirklich einwandfreie Feststellungen. Die Fig. 37 enthält sogar zwei Tochterzellen übereinander. In jeder von ihnen lassen sich zweifellos 16 Chromosomen feststellen. In einzelnen Fällen habe ich 18 Chromosomen zählen können. Es könnte sich aber dabei um segmentierte Chromosomen (s. S. 352) handeln. Dieser letzte Umstand, die Segmentierung der Chromosomen, scheint meiner Ansicht nach eine große Fehlerquelle bei Merrimans Zählungen gewesen zu sein. Auf die Quersegmentierung der Chromosomen haben auch Grégoire (15) und Lundegardh (23) hingewiesen. Ich glaube, sie wird oft durch nicht ganz einwandfreie Fixierungen verursacht. Wenigstens fand ich sie meistens in den Zellen, die am Rande der nicht ganz gelungenen Präparate sich befanden (Fig. 2): vielleicht entsteht sie durch zu brüske Wirkung des Fixierungsmittels.

d) Der Chromatinknoten Bonnevies.

Die zweite Frage, die ich hier noch berühren möchte, betrifft ein Gebilde, das Bonnevie als »Chromatinknoten« bezeichnet hat. Es ist das nach ihrer Auffassung eine Anhäufung von chromatischer Substanz, die mit dem von Jansens nach dem Vorschlag von Eisen so genannten »Chromoplast« in den Geschlechtszellen von *Batrachoceps* identisch ist. Bonnevie beschreibt diese Bildung in den Wandzellen der Pollensäcke von *Allium cepa*, also in somatischen Zellen und in den Pollenzellen selbst. Der Knoten soll in der Telophase dadurch entstehen, »daß die Bügel der

Chromosomenschleifen zu einer kompakten Masse zusammentreten«. Auch weiterhin würden die Chromosomen noch Substanz an den Knoten abgeben, denn BONNEVIE sagt, »die relativ großen V-förmigen Tochterchromosomen der Telophase werden zu dünnen Spiralfäden verjüngt, während die von jedem derselben abgegebene Substanz gegen ihre winkelig abgebogene Mitte hinströmt, um in den hier gebildeten Chromatinknoten abgelagert zu werden«. Dann ist die V-Form jedes einzelnen Chromosoms verborgen, so daß die freien Enden derselben vom Rande des »Chromatinknotens« auszustrahlen scheinen. In dem Ruhekern bleibt der Chromatinknoten erhalten und behält seine oberflächliche Lage. In der Prophase löst er sich allmählich wieder auf; ob und in wie weit dabei seine Substanz zur Neubildung der Prophasenchromosomen verwendet wird, geht aus BONNEVIES Darstellung nicht klar hervor. Sie erklärt eine solche Verwendung für wahrscheinlich ([3], S. 222), sagt aber gleich darauf, daß ein Rückströmen der Chromatinknotensubstanz in die Chromosomen nicht stattfinde und daß (S. 223) ein solcher Vorgang auch nicht notwendig sei, da der Chromatinknoten sich in andern Zellen (in der Wurzelspitze z. B.) nicht findet.

Mit Rücksicht auf die Möglichkeit eines Zusammenhangs des Chromatinknotens mit der Chromosomengenese habe ich diese Bildung allerdings nicht in den Pollensackwandzellen, sondern in den Wurzelspitzenzellen besonders beachtet. Daß in diesen ein Chromatinknoten vorkomme, stellt BONNEVIE allerdings in Abrede. Ich finde aber hier eine Bildung, die in jeder Hinsicht der Beschreibung und den Abbildungen, die BONNEVIE von dem Chromatinknoten gibt, entspricht.

Es schien mir vor allem notwendig, die Frage zu erledigen, ob es sich bei dieser Bildung wirklich um eine Anhäufung chromatischer Substanz oder vielleicht um einen echten Nucleolus handle. BONNEVIE begnügt sich in dieser Hinsicht mit der Aufstellung eines Merkmals der äußern Form. Sie sagt, daß die echten Nucleolen eine glatte, abgerundete Oberfläche haben und von den chromatischen Strukturen des Kerns unabhängig seien, während der Chromatinknoten eine zackige Oberfläche besitze, von welcher die Chromatinfäden in mehr oder weniger deutlicher radiärer Anordnung ausstrahlen. Dieses Kriterium erschien mir ungenügend. Ich habe deshalb die specifische Nucleolenfärbung angewandt, und zwar nach der Methode von MONTGOMERY und von OBST. Hierdurch kam ich zu dem überraschenden Resultat, daß das fragliche Gebilde ein echter Nucleolus ist (Fig. 39—42). Es färbt sich ebenso, wie die neben ihm vorhandenen Nucleolen intensiv mit Eosin (MONTGOMERY), während die chromatischen Strukturen entweder als Fäden oder als fertige Chro-

mosomen die dunkelblaue Farbe des Hämatoxylins festhalten. Durch diesen Farbengegensatz kam die vollständige Unabhängigkeit der chromatischen Elemente von den fraglichen Gebilden klar zutage. Schon die von Bonnevie angegebene Entstehungsweise dieses Gebildes ergibt sich als unrichtig. Wie die Telophasenfigur 39a zeigt, kann das Zusammentreten der Telophasenchromosomen zur Bildung eines Chromatinknotens durch einen Nucleolus vorgetäuscht werden (vgl. Fig. 39a mit b). Auch die oberflächliche Lage, die ihm von Bonnevie zugeschrieben wird, hat sich bei Anwendung der Nucleolfärbung als eine mehr im Kerninnern lokalisierte erwiesen. In Fig. 39a bis 42a sieht man die chromatischen Strukturen sowohl über dem Nucleolus wie unter ihm durchziehen.

Um dem Einwand zu begegnen, daß man vielleicht in diesen Fällen den Nucleolus als solchen und die Unabhängigkeit der Chromatinstrukturen von ihm auch ohne specifische Färbung erkannt hätte, d. h. ohne daß sie erst durch den Farbengegensatz deutlich gemacht wurden, habe ich in der Anwendung des monochromatischen Lichtes[1]) ein Mittel gebraucht, das diesen Farbenunterschied aufhebt und auf diese Weise der Zelle das Aussehen einer mit irgend einem Kern-Farbstoff tingierten verleiht. Wie es zu erwarten war, bekamen die Zellen mit den fraglichen Körpern, sobald ich sie in das monochromatische Licht brachte, genau das Aussehen, wie es Bonnevie beschrieben und abgebildet hatte. Die chromatischen Fädchen und die Chromosomenschleifen (Fig. 39b—42b) schienen tatsächlich von einem in ihrer Mitte gelegenen und genau gleichgefärbten Körper auszustrahlen. Wahrscheinlich durch rein optisches Phänomen erscheint der Rand des Nucleolus an den Stellen, wo er von chromatischen Fäden gekreuzt wird, zackig ausgezogen. Das ist der Fall gewesen sowohl bei Untersuchung im gewöhnlichen Licht wie bei der im monochromatischen. Es ist auch auf meinen Bildern möglichst genau wiedergegeben.

Die Bilderreihe (Fig. 39—42, a und b) entstand so, daß ich jede Zelle zunächst in gemischtem Licht einer gewöhnlichen Mikroskopierlampe und nachher dieselbe Zelle ohne irgend etwas an der Einstellung oder Vergrößerung zu ändern, im monochromatischen Licht jedesmal mit dem Zeichenapparat aufzeichnete. Diese Bilder zeigen mit zweifelloser Klarheit für die so geprüften Fälle, daß der Chromatinknoten als echter Nucleolus zu betrachten ist.

Wie sich die Sache in andern von mir nicht untersuchten Fällen ähnlicher Art verhält und wie die Befunde Janssens zu beurteilen sind, vermag ich natürlich nicht zu sagen. Es scheint jedenfalls zweckmäßig,

[1]) Ich benutzte die Quecksilberquarzlampe von Zeiss und den von Köhler berechneten Filter.

um zu wirklich einwandfreien Feststellungen über die Beziehungen zwischen Chromosomen und Nucleolen oder ähnlichen Gebilden zu kommen, eine specifische Nucleolenfärbung vorzunehmen. Sowohl Bonnevie (3) wie Janssens (21) haben aber ausschließlich Kernfarbstoffe gebraucht, die ja vom Nucleolus und vom Chromatin in gleicher Weise festgehalten werden.

Auffallend ist es, daß das Centrum, von dem aus die Chromatinfädchen ausstrahlen (Fig. 39—42), sich doch genau über dem Nucleolus zu befinden scheint. Ob man diese Beobachtung mit einer näheren Beziehung des Nucleolus zu den Chromosomen in Zusammenhang bringen soll, oder mit seiner von Janssens beschriebenen Entstehungsweise (auf dem Wege gewissermaßen einer Exsudation aus der chromatischen Substanz) erklären kann, möchte ich vorderhand nicht entscheiden. Identisch ist die Substanz des Nucleolus mit dem Chromatin der fertigen Chromosomen jedenfalls nicht, wie sein färberisches Verhalten zeigt. Auch steht er schon in der frühesten Prophase in keinem direkten Zusammenhang mit den Doppelstrukturen der chromatischen Substanz.

Es ist mir beim Durchschauen der auf Nucleolen specifisch gefärbten Präparate aufgefallen, daß man manchmal in der Metaphase (Fig. 43) und in der Anaphase (Fig. 44) noch Nucleolen findet, im Gegensatz zu der allgemeinen Annahme, daß die Nucleolen in der späten Prophase verschwinden, um erst in der späten Telophase wieder aufzutreten. Genau dasselbe Verhalten des Nucleolus hat auch Rosen (zit. nach Heidenhain [17]) in den Wurzelspitzen von *Phaseolus vulgaris* beschrieben. Ich möchte noch darauf hinweisen, daß bei nicht specifischer Nucleolenfärbung man den Nucleolus in den Fig. 43b, 44b sicher für einen Chromosomenanschnitt oder -querschnitt halten würde, wie er auch auf dem Parallelbild im monochromatischen Licht tatsächlich aussieht (Fig. 43b, 44b). Ich möchte aber auf die Nucleolenfrage nicht weiter eingehen, sie befand sich ursprünglich nicht in dem Plan meiner Arbeit, auch bietet sie zuviel Schwierigkeiten und hat eine zu wichtige Bedeutung, als daß man sie nebenbei behandeln könnte.

e) Zusammenfassung der Befunde.

1. In dem Stadium der Metaphase sind alle Chromosomen längsgespalten, jedes besteht also aus zwei superponierten Stäbchen, welche auf dem optischen Querschnitt eine Differenzierung in eine helle Innenzone und eine dunkle, ringförmige Außenschicht zeigen.

2. In der Anaphase sind die Chromosomen einheitlich. Jedes bietet genau das Aussehen einer Spalthälfte der Metaphasenchromosomen.

3. In der späten Anaphase verändert sich das Querschnittsbild der Chromosomen. Die früher ringförmige dunkle Außenzone wird polygonal. Das ist die erste Andeutung der Umlagerungen der chromatischen Substanz.

4. In dem »Tassement polaire«-Stadium lassen sich wegen der hier eintretenden starken Kontraktion der Chromosomen diese Änderungen nicht weiter verfolgen.

5. In der Telophase sieht man, daß die in der Anaphase einsetzenden Umlagerungen der chromatischen Substanz zu einer Verteilung derselben auf zwei Fäden geführt hat. Die Fäden laufen parallel, bald umeinander gewunden, bald sind sie durch Anastomosen verbunden.

6. Der Ruhekern hat eine Netzstruktur, die je nach den verschiedenen Geweben der Wurzelspitze etwas variierendes Aussehen hat. Im Meristem wird diese Struktur fast nie vollkommen angenommen, vielmehr bleiben hier die doppelfädigen Telophasenchromosomen stets deutlich verfolgbar und gehen in die folgende Prophase über (Intermediärkerne).

7. Die Anastomosen entstehen aktiv durch Verschiebungen der chromatischen Substanz, nicht aber passiv bei Auseinanderweichen der Telophasenchromosomen nach dem Tassementstadium (Grégoire).

8. Die Einleitung der Prophase äußert sich darin, daß die Anastomosen zurückgebildet werden und im Kerninnern ausschließlich Doppelfädchen wieder erscheinen.

9. Durch die ganze Prophase hindurch bleiben die chromatischen Elemente doppelt. Die zusammengehörigen Schwesterfäden zeigen in jeder Entwicklungsphase ein völlig symmetrisches Verhalten und bilden sich zu den Spalthälften der Metaphasenchromosomen um.

10. Die Zahl der Chromosomen ist in *Allium*-Zellen 16, längsgespalten in der Metaphase, einheitlich in der Anaphase.

11. Der von Bonnevie in den Wandzellen der Pollensäcke gefundene Chromatinknoten findet sich auch in den Wurzelspitzen von *Allium*. Er erweist sich nach specifischer Färbung als echter Nucleolus, über und unter welchem die chromatischen Elemente hinwegziehen, ohne in ihn einzugehen.

12. Im Gegensatz zu Schaffners Angaben (33) möchte ich noch bemerken, daß ich nie ein Centrosom bei den *Allium*-Teilungen habe auftreten sehen.

III. Stellungnahme zu Bonnevies Angaben in bezug auf somatische Zellen.

Wie schon aus dieser Zusammenstellung hervorgeht, widersprechen meine Untersuchungen an *Allium* den Bonnevieschen Angaben in mehrfacher Hinsicht.

1. Ihre Theorie der Chromosomengenese scheint auf einer Vereinfachung und Schematisierung der ihr vorgelegenen Bilder (insbesondere der Telophasenstadien, die den Ausgang ihrer Theorie bilden) zu beruhen. Näheres für jedes einzelne Stadium ist an entsprechenden Stellen ausdrücklich dargelegt worden. Zu ihren theoretischen Ausführungen über die Chromosomenkontinuität stehen dagegen meine Befunde in keinem Widerspruch. Wie aus den Umwandlungen des Chromatins in der Telophase hervorgeht, repräsentiert jeder von den zwei aus einem Chromosom entstehenden Fäden wahrscheinlich schon das Chromosom der nächsten Zellgeneration. In den Intermediärkernen der meristematischen Zone läßt sich dieser Zusammenhang in dem nicht ganz zur Ausbildung kommenden Ruhenetz direkt verfolgen. Als allgemein gültig für die Theorie der Chromosomenindividualität (vielleicht besser Chromosomenkontinuität) lassen sich diese Befunde nur dann betrachten, wenn man es überhaupt für zulässig hält, von diesen für die Untersuchung besonders günstigen Fällen auch auf diejenigen zu schließen, wo das besser ausgebildete Kernnetz die individuellen Fädchen nicht mehr erkennen läßt.

2. Gegenüber der Angabe Bonnevies über den Bau und den Teilungsmechanismus der Chromosomen muß ich mich gleichfalls ablehnend verhalten. Wie es aus meiner Beschreibung der optischen Querschnittsbilder hervorgeht, vermochte ich in keinem Stadium der Chromosomenentwicklung eine Chromosomenachse zu unterscheiden. Ich muß hinzufügen, daß zu demselben negativen Resultat auch andere Untersucher gekommen sind, auch solche, die auf diesen Punkt speziell geachtet haben. Lundegardh (23) schreibt z. B. in seiner vorläufigen Mitteilung, er könne die Angaben Bonnevies über die Teilungsstrukturen der Chromosomen nicht bestätigen. Vejdovsky (36) stellt sie für die *Ascaris*-Chromosomen auch in Abrede, allerdings gibt er an, seine Präparate wären weniger dazu geeignet, so feine Gebilde zu studieren: er konnte am Chromosomenquerschnitt nicht einmal zwei verschieden färbbare Substanzen unterscheiden. Auch hat er eine schwächere Vergrößerung (Oc. 8) gebraucht als die, mit der Bonnevie gearbeitet hat (Oc. 12). C. Schneider (34), der die Chromosomen an den Epidermiszellen der Salamanderlarve studiert hat, sagt, er hätte »von solchem Achsenfaden beim Salamander nie die Spur wahrgenommen«, dabei hat er 2—3 μ dünne Schnitte, die anscheinend sehr gut gelungenen Präparaten entnommen waren, untersucht. Neben diesen Forschern könnte ich auch alle andern bereits zitierten nennen, denn vor Bonnevie hat keiner eine Chromosomenachse oder entsprechende Gebilde am Chromosomenquerschnitt beschrieben. Aber gerade die negativen Resultate der besonders genannten Autoren erscheinen mir bewei-

send, denn bei der Feinheit dieser Struktur wäre es nicht unmöglich, daß sie vor Bonnevies Mitteilung unbeachtet geblieben wäre. Die zitierten Forscher aber, veranlaßt durch die Bonnevieschen Angaben, haben speziell darauf geachtet und konnten trotzdem die Existenz einer Chromosomenachse nicht bestätigen.

In ihrer letzten Arbeit (1913) kommt Bonnevie wieder auf die Frage der Chromosomenachse zurück. Sie bestätigt wiederum ihre vorherigen Befunde, indessen wie auch in der Frage nach der Entstehung der Chromosomen als einzelne Spiralen nicht mehr so entschieden wie bisher. Sie gibt zu, in den früheren Veröffentlichungen auf den Querschnittsbildern der Chromosomen den Achsenquerschnitt zu groß angegeben zu haben. Ebenso drückt sie sich jetzt vorsichtiger aus über die Bedeutung der Achse, worüber sie früher ganz positive Angaben gemacht hat.

Wichtig erscheint mir auch die Tatsache, daß noch andere Gründe entschieden gegen das Vorkommen eines solchen Teilungsorgans der Chromosomen sprechen. Nach Bonnevies ursprünglicher Auffassung liegt die Bedeutung der Chromosomenachse in der Herbeiführung der Chromosomenteilung. Nun zeigen aber meine Befunde neben denen von Lundegardh, daß eine solche unmöglich und unnötig ist. Sie hätte zur Voraussetzung ein vorher ungespaltenes Chromosom. Ein solches aber, an dem die Teilung noch zu erfolgen hätte, kann in der Prophase nicht existieren, da ja die chromatischen Elemente schon doppelwertig in die Prophase eintreten, um sich hier zu den Spalthälften der Metaphasenchromosomen zu entwickeln, die in der Metaphase von einander entfernt werden. In diesem Entwicklungsgang, welcher die ganze Prophase ausfüllt und deren Bedeutung er ausmacht, kann somit kein Teilungsprozeß enthalten sein. Die Zweiteilung des Chromatins findet statt in der Telopase und die dort entstandenen Doppelelemente werden als paarige Chromatinfädchen der Prophase überliefert. Die Bedeutung der Prophase liegt lediglich in der Ausbildung dieser Fädchen zu definitiven Chromosomen. Auf diese Art der Chromosomengenese möchte ich jetzt etwas näher eingehen.

IV. Die telophasischen und prophasischen Doppelstrukturen und ihre Bedeutung.

Das Vorkommen von Doppelstrukturen außer in der späten Prophase und Metaphase, wo sie als selbstverständlich und naturgemäß erscheinen, ist schon vielfach beschrieben worden. Zunächst erwähne ich nur diejenigen Arbeiten, in denen die Längsspalte in der sehr frühen Prophase festgestellt wurde. Schon Flemming (10) hat das Auftreten einer

biserialen Anordnung des Chromatins im feinfädigen Knäuel und das Erscheinen einer Längsspalte in der Prophase angegeben. Meves (27) sagt, daß »die sich anlegenden Chromosomen von vornherein doppelt sind«. Dies ist sowohl bei der Mitose der Spermatocyten und Ovocyten wie bei derjenigen der somatischen Zellen der Fall. Bei pflanzlichen Objekten hat Overton (32) auch an somatischen Zellen in Ruhekernen »Prochromosomen« beschrieben, die in Paaren angeordnet sind (bei *Thalictrum purpurascens* und *Calycanthus floridus*). Sykes (35) hat Prochromosomen in Ruhekernen und Doppelstrukturen in der sehr frühen Prophase der somatischen Zellen (bei *Funkia*) beschrieben und abgebildet. Die beiden letztgenannten Autoren möchte ich von den vielen andern, die auch Doppelstrukturen in Ruhekernen und in der frühen Prophase beschrieben haben, besonders hervorheben, weil sie an die von ihnen festgestellten Tatsachen des Doppelbaues der Chromatinstrukturen in diesen Stadien theoretische Betrachtungen anknüpfen: Sie fassen sie als Beweis für das Getrenntbleiben der väterlichen und mütterlichen Elemente auf. Diese theoretischen Deutungen scheinen mir aber ungenügend begründet zu sein. Sie fußen auf dem Doppelbau der Chromatinstrukturen in der Prophase und im Ruhekern, ohne deren Entstehungsweise in Betracht zu ziehen. Wie aber aus meinen Untersuchungen insbesondere an den Intermediärkernen hervorgeht, werden die Doppelstrukturen des Ruhekerns und der Prophase diesen Stadien bereits überliefert, von dem Telophasenstadium aus, wo sie durch Teilung eines einheitlichen Chromosoms entstehen, denn in der vorausgehenden Metaphase und Anaphase sind die Chromosomen noch vollständig einheitlich gebaut. Dies ist auch noch zu Beginn der Telophase der Fall, allerdings mit dem Unterschied, daß die Verteilung des Chromatins auf dem Chromosom nicht mehr so regelmäßig ist. Erst nach dem Tassementstadium wird die Zweiteilung des Chromatins deutlich, wobei man von einer eigentlichen Spaltung kaum sprechen kann, besser von einer Herausdifferenzierung der Doppelchromosomen, d. h. einer Verteilung des Chromatins auf zwei Fäden.

Auf die Zweiteilung des Chromatins in den Telophasenchromosomen und die sehr wahrscheinliche Beziehung dieses Vorganges zu dem Vorhandensein der Doppelstrukturen in den Prophasenkernen wurde schon oft hingewiesen, insbesondere in der botanischen Literatur. Hof (20) hat im Jahre 1898 das Auftreten einer Längsspaltung im Stadium des »Dispirems«, d. h. Tochterknäuels bei *Ephedra*-Wurzelspitzen beschrieben und vermutungsweise ausgesprochen, »daß bei der raschen Aufeinanderfolge der Teilungen im meristematischen Gewebe diese im Dispirem andeutungsweise auftretende Längsspaltung nicht eine sekun-

däre der Anaphase angehörige, sondern die schon sehr früh sich geltendmachende Neigung zur Längsspaltung der Prophase der nächsten Kernteilung ist« (S. 222). Diese Ansicht wurde mit mehr Bestimmtheit auch von Fraser und Snell (11) und von Digby (9) vertreten. Lundegardh (23, 24), der auch lebendes Material untersucht hat, verlegte die Spaltbildung sogar in das Anaphasenstadium, das aber, wie oben besprochen, wahrscheinlich einer Telophase entspricht. Er nimmt demgemäß an, daß die Doppelstrukturen der Prophase aus denen der Telophase sich ableiten lassen. Dehorne geht noch weiter (7), nach ihm soll die Längsspaltung in den Chromosomen eines Telophasenkerns zur prophasischen Längsspalte der übernächsten Chromosomengeneration werden. Diese Angaben stützt er auf seine Untersuchungen an *Allium*- und Salamanderchromosomen, also auch tierische Telophasenchromosomen sollen denselben Doppelbau wie die pflanzlichen besitzen. Diese Angabe wird von K. C. Schneider bestätigt, der in Epidermiszellen von Salamanderlarven die Telophasenchromosomen als aus zwei »Miten« (nach seiner Nomenklatur) bestehend beschreibt. Wenn man die Literaturangaben zusammenstellt, so ergibt sich, daß ein Doppelbau der chromatischen Elemente für somatische Zellen in der Telophase mit deren wahrscheinlicher Überlieferung in die Prophase an folgenden Objekten festgestellt worden ist.

1. Pflanzen: *Ephedra*-Arten (Hof), *Galtonia candicans* (Digby [19]), *Vicia Faba* (Lundegardh [23, 24], Fraser und Snell [11]), *Allium cepa* (Lundegardh, Dehorne [7]), *Curcurbita pepo* (Lundegardh [24]), *Endymion*, *Galtonia*, *Hyacinthus* (Granier und Boule [12]).

2. Tiere: *Salamandra maculosa* (Dehorne [7]), Salamanderlarve (K. C. Schneider [34]), *Tryxalis* (Brunelli [6]).

Eine Längsspaltung in der Anaphase oder Telophase wurde an *Ascaris*-Chromosomen von van Beneden, Neyt, Herla (zit. nach Bonnevie) und von Bonnevie beschrieben. Abgebildet wurde die telophasische Doppelstruktur, wenn auch nicht als solche erkannt, in den Arbeiten von Grégoire und seiner Schule, z. B. bei *Trillium* (Grégoire und Wygaerts [13], Taf. 2, Fig. 2), Salamanderlarve (Kowalsky [22], Fig. 2, 8, 11, 28, 29). Weiterhin von Bonnevie ([1], Fig. 23), Merriman (26), bei *Allium* und Clemens Müller ([29], Fig. 31—34) bei *Nayas Marina*.

Diese Beobachtungen besagen, daß die somatische Chromatin-Einheit im Moment der Herausdifferenzierung der beiden Schwesterfäden aus dem Telophasenchromosom den ersten Schritt zur nächsten Teilung vollzieht. Demnach würde sich eine Teilungsperiode von Telophase zu Telophase erstrecken. Die Anaphasenchromosomen wären dann als Mutter-

chromosomen, die in der Telophase entstehenden Fädchen, wie auch die Längshälften der Prophasenchromosomen wären als Tochterchromosomen zu bezeichnen. In manchen Fällen, d. h. in den Kernen der meristematischen Zone unsres Objekts (»Intermediärkerne«, s. S. 361) steht dieser Abgrenzung der Teilungsperiode nichts im Wege, denn hier werden die neugebildeten Elemente offenbar direkt in die Prophase der nächsten Mitose übergeführt. Wenn, wie gewöhnlich, ein Ruhekern auf die Telophase folgt, dann wird der Fortgang der Teilung freilich unterbrochen. Aber in bezug auf den für die Chromosomenteilung wichtigsten Moment, nämlich die Längsspaltung oder die Entstehung der Tochterchromosomen, darf man wohl auch in solchen Fällen das Ruhestadium nicht für ein Endstadium der Teilungsperiode halten, wie es einer älteren in dem FLEMMINGschen Schema der Kernteilung zum Ausdruck gebrachten Auffassung entsprechen würde und wie es die Bezeichnungen »Telophase« und »Prophase« zu verlangen scheinen.

Es ist außerdem klar, daß die gekennzeichnete Abgrenzung der Teilungsperiode geeignet ist, die Theorie von der Chromosomenkontinuität zu stützen.

V. Stellungnahme zu den heterotypischen Merkmalen nach Bonnevie.

Nun gehe ich über zu der Besprechung der heterotypischen Merkmale nach BONNEVIE. Wie erinnerlich, waren es deren zwei: Ausfall des Ruhekerns in der Interkinese und ein doppelfädiges Stadium in der früheren Prophase der ersten Reifungsteilung.

1. Was das erste Merkmal betrifft, kann ich mich kurz fassen. Meine Untersuchungen haben gezeigt, daß eigentliche Ruhekerne auch bei den somatischen Zellteilungen nicht immer ausgebildet werden. So entbehrt man sie fast vollständig in der meristematischen Zone. Hier kann man in der größeren Anzahl der Fälle ihre Beziehung zu den telophasischen und prophasischen Doppelstrukturen erkennen. Diese Beobachtung, die von fast allen Untersuchern der Teilungen an Vegetationspunkten der Pflanzen gemacht worden ist, muß gegenüber dem ersten heterotypischen Merkmale BONNEVIES eine gewisse Zurückhaltung hervorrufen. Allerdings kann ich nicht sagen, ob das Fehlen des Ruhekerns, d. h. ob der Übergang von der Telophase zu der Prophase in somatischen und generativen Zellen in derselben Weise vor sich geht, da ich die Generationszellen noch keiner eingehenden Untersuchung unterzogen habe. Bei unbefangener Beurteilung dieses Punktes muß man wohl folgendes sagen: Die zeitliche Aufeinanderfolge der Zellteilungen unterliegt den größten Schwankungen, je nach der Zellenart und dem Zustand der Zelle. Zwischenstufen

verbinden die beiden Extreme, von denen das eine durch die beiden Reifungsteilungen der Gonocyten in ihrer unmittelbaren Aufeinanderfolge, das andre etwa durch das Verhalten einer Drüsenzelle repräsentiert wird, die nach erlangter Funktion erst unter besondern Umständen ihre Teilungsfähigkeit wieder bekommt. Natürlich können wir nicht für jede Stufe des zeitlichen Intervalls zwischen zwei Teilungen Struktureigentümlichkeiten des Kerns, wenigstens für uns warnehmbare, voraussetzen. Denn von einer gewissen Teilungsverzögerung ab tritt eben die Ruhestruktur auf. Aber so lange dieser Grad der Verzögerung nicht erreicht wird, können wir Übergangsstrukturen zwischen dem Zustand der Interkinese (Grégoire) der beiden Reifungsteilungen mit ihren wohlerhaltenen, bereits längsgespaltenen Chromatinelementen und einem echten Ruhekern tatsächlich beobachten. Die Übergangsstrukturen nähern sich bald mehr dem einen, bald mehr dem andern Extrem, wahrscheinlich im ursächlichen Zusammenhang mit der Dauer des Teilungsintervalls: Es werden entweder sämtliche Telophasenchromosomen bis zur Prophase erhalten bleiben, oder nur eine größere oder geringere Anzahl derselben, wofür unsere Intermediärkerne Zeugnis ablegen, bis schließlich bei längerem Teilungsintervall alle Chromosomen für uns nicht mehr individuell wahrnehmbar in das Ruhegerüst des Kerns aufgehen.

Dieser Anschauung zufolge können wir dem Fehlen des Ruhekerns zwischen den beiden Reifungsteilungen nicht die Bedeutung zuerkennen, daß etwa dadurch diesen Zellteilungen ein prinzipiell andersartiger Charakter gegenüber den somatischen Mitosen aufgedrückt würde.

2. Mit voller Sicherheit kann ich einen ablehnenden Standpunkt in der Frage nach dem zweiten Merkmal, welches nach Bonnevie die heterotypischen Mitosen von den somatischen unterscheiden soll, nämlich der parallelen Anordnung der chromatischen Fäden in der früheren Prophase, einnehmen. Auf die eventuelle Bedeutung dieses Merkmals für die Theorie der Parallelkonjugation wurde schon oben hingewiesen. Meine Bilder zeigen mit zweifelloser Sicherheit, daß die parallele Anordnung der chromatischen Fäden in der frühen Prophase durchaus in den Cyklus der somatischen Teilungen hineingehört. Sie ist mit solcher Evidenz und solcher Regelmäßigkeit in den chromatischen Prophasen vorhanden, daß kein Zweifel bestehen kann, daß sie absolut typisch und keineswegs heterotypisch ist[1]).

---

[1]) Ich möchte nochmals hinweisen auf die überraschende Ähnlichkeit meiner Bilder Fig. 26 und 40, die dem Meristem entnommen sind, mit Bonnevies Fig. 20 und 21, welche die Prophase der ersten Reifungsteilung repräsentieren.

Zu derselben Anschauung ist schon Digby (8) im Jahre 1910 auf Grund ihrer Untersuchungen an *Galtonia candicans* gekommen. Sie hat an dieser Pflanze die somatischen, prämeiotischen und meiotischen Teilungen studiert und ist zu der Überzeugung gekommen, daß die Doppelstrukturen der somatischen Prophase denjenigen der Generationszellen absolut gleichwertig sind.

VI. Stellungnahme zu den theoretischen Anschauungen Lundegardhs.

Lundegardh hat ebenfalls die morphologische Identität der Doppelbildungen des Chromatins in den somatischen und generativen Zellen richtig erkannt und sehr ausdrücklich darauf hingewiesen. Als Anhänger der Theorie der Parallelkonjugation versucht er aber diese Identität, die seinen Anschauungen im Wege steht, dadurch zu umgehen, daß er die identischen Bilder als Ausdruck verschiedener Vorgänge deutet. Von Winiwarter war der erste, der die von Rückert und Haecker abgebildeten und beschriebenen Bilder des Doppelbaues der Chromatinsubstanz in der sehr frühen Prophase der Geschlechtszellen umdeutete und nicht mehr auf Längsspaltung zurückführte, sondern als eine paarweise Vereinigung, als Konjugationsvorgang der beiden Komponenten auffaßte. Ihm sind zahlreiche Forscher gefolgt, die alle die Bilder einer zweireihigen Anordnung der chromatischen Substanz als Vorgang der Paarung ganzer Chromosomen bezeichnet haben[1]). Diejenigen Anhänger der Theorie der Parallelkonjugation, die den Vergleich zwischen generativen und somatischen Mitosen vorgenommen haben, glaubten das ausschließliche Vorkommen dieser Bilder in der Prophase der ersten Reifungsteilung feststellen zu können (Grégoire, Bonnevie). Nun aber hat Lundegardh (23, 24) und andre oben genannte Autoren dieselbe Anordnung in den somatischen Teilungen festgestellt und richtig, nämlich als durch Längsteilung einer chromatischen Einheit entstanden, gedeutet. Anstatt aber derselben Erscheinung in den Geschlechtszellen dieselbe Deutung zu geben,

---

[1]) Ein extremes Beispiel dieses Vorgehens bietet uns Sykes. Für Sykes bedeuten die Doppelstrukturen, die sie in der früheren Prophase sowohl an den somatischen als in den generativen Zellen beobachtet hat, in beiden Fällen eine Paarung ganzer Chromosomen (jeweils eines väterlichen mit einem mütterlichen). Die Unzulänglichkeit dieser Annahme ist durch die Genese der Doppelstrukturen in den somatischen Zellen genügend erwiesen (siehe S. 379). Man sieht auch an diesem Beispiel, welch gewagte Interpretationen die aufgefundene Doppelfädigkeit der Prophasenchromosomen von seiten der Anhänger der Parallelkonjugation erfährt, offenbar lediglich unter dem Einfluß der vorgefaßten Meinung, daß die Duplizität der chromatischen Elemente der Ausdruck einer Paarung und nicht einer Spaltung sein müsse.

sucht Lundegardh als Anhänger der Theorie der Parallelkonjugation durch Hypothesen zu beweisen, daß die Chromatinanordnung dieser Zellen durch andre Ursachen hervorgerufen wird. Er nimmt nämlich an, daß dem Chromatin ganz allgemein eine Tendenz zum dualistischen Bau innewohnt. Einerseits soll sich diese Tendenz in einer Verteilung der chromatischen Substanz eines Chromosoms auf zwei parallele Fäden äußern, was für die somatischen Zellen zutrifft. Andrerseits aber wird gewissermaßen eine Umkehrung dieser Fähigkeit angenommen und die Chromatinelemente bekommen die Eigenschaft, sich an einander zu schließen. Diese Annahme ist zur Erklärung der Parallelfäden der heterotypischen Prophase geschaffen worden.

Lundegardh (24) gibt zu, morphologisch bestünde kein Unterschied zwischen den typischen und den heterotypischen Prophasen, nimmt aber eine »stoffliche Verschiedenheit der Doppelfäden in den beiden Prophasen« an. Im ersten Fall sind die beiden Komponenten der Fädchenpaare identisch. Sie entstehen entweder durch Spaltung homogener Elemente (was meistens der Fall ist), oder identische Chromatinsubstanzen ziehen sich gegenseitig an und ordnen sich zu Paaren (dieser Vorgang soll nach besser ausgebildeten Ruhestrukturen eintreten). Im zweiten Falle »werden zwei qualitativ (von mir gesperrt) verschiedene Karyotinsubstanzen zu einer Doppelschlinge gruppiert, indem eine Paarung der kleinen zusammentretenden Karyotinelemente« stattfinden soll. In diesem Fall sollen aber die Karyotinelemente eben verschieden sein. Dieser Umschlag der gewöhnlich bestehenden Tendenz zur dualistischen Anordnung identischer Elemente soll plötzlich eintreten, veranlaßt durch eine »neue Konstellation der inneren Bedingungen bei Beginn der Reifungsteilung«. Dieser Erklärungsversuch der zweireihigen Anordnung der chromatischen Elemente durch eine Tendenz zum dualistischen Bau, die eine fundamentale Eigenschaft des Chromatins überhaupt sein soll, ist, insofern er sich auf somatische Zellen bezieht, durch Tatsachen gestützt. Wir sehen tatsächlich in der Telophase aus einem homogenen Chromosom zwei chromatische Fädchen entstehen. Wir sehen auch, daß die beiden Fädchen in die Prophase übertragen werden, wie aus Lundegardhs und meinen Bildern hervorgeht. Für den zweiten Teil des Erklärungsversuches haben wir aber absolut keine morphologischen Beweise. Solche bringt auch Lundegardh nicht. Dieser Teil bleibt rein hypothetisch und höchst willkürlich angenommen zu dem Zweck nämlich, um die Doppelfäden der heterotypischen Prophase als Ausdruck eines Paarungsvorganges, einer parallelen Konjugation deuten zu können. Es scheint mir aber, eine solche willkürliche Annahme, wie die Hypothese von den stofflich

verschiedenen Elementen, die parallel sich anordnen sollen, um so weniger begründet und erlaubt, als wir sie ja nicht einmal zur Erklärung der heterotypischen Doppelstrukturen brauchen. Diese haben in den Doppelstrukturen der typischen Prophase ihre genügende Erklärung gefunden und so komme ich zu dem Schluß: Die doppelfädige Anordnung der Chromatinsubstanzen in der Prophase ist nichts für die heterotypische Prophase Charakteristisches und somit auch kein Beweis und keine Stütze der Theorie der Parallelkonjugation.

Literaturverzeichnis.

1. Bonnevie. Chromosomenstudien I. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908.
2. —— Chromosomenstudien II. Arch. f. Zellforsch. Bd. II. 1908.
3. —— Chromosomenstudien III. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI. 1911.
4. —— Über die Struktur und Genese der Ascarischromosomen. Arch. f. Zellforsch. Bd. IX. 1913.
5. Berghs. La formation des chromosomes hétérotypiques dans la sporogenèse végétale. Cellule. T. XXI. 1904.
6. Brunelli. Sulla riconstituzione del Nucleo. Atti della reale Accad. dei Lincei. Rendi-conti Classe de scienze fisiche, matem. e naturali. 1910. Ser. V. Vol. XIX. sem. I.
7. Dehorne. Recherches sur la division de la cellule. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI. 1911.
8. Digby. Observation on Chromatic Bodies. Ann. of Botany. Vol. XXIII. 1909.
9. —— The somatic premeiotic and meiotic Nucleolar Division of Galtonia candicans. Annals of Botany. Vol. XXXV. 1910.
10. Flemming. Neue Beiträge zur Kenntnis der Zelle. Arch. f. mikr. Anatomie. Bd. XXIII. 1897.
11. Fraser u. Snell. The vegetativ Division in Vicia faba. Ann. of Botany. Vol. XXV. 1911.
12. Granier et Boule. Sur les cinèses somatiques chez Endymion nutans. Comptes rendus, Acad. Sciences. Paris. T. CLII.
13. Grégoire et Wygaerts. La reconstruction du noyau et la formation des chromosomes dans les cinèses somatiques. Cellule. T. XXI. 1904.
14. Grégoire. Les résultats acquis sur les cinèses de maturation dans les deux règnes. Cellule. T. XXII. 1905.
15. —— La structure de l'élément chromosomique au repos et en division dans les cellules végétales (Racines d'Allium). Cellule. T. XXIII. 1906.
16. —— Les cinèses de maturation dans les deux règnes. Sonderabdruck. Cellule. T. XXVI.
17. Heidenhain. Plasma und Zelle. 1907.

18. Häcker. Die Chromosomen als angenommene Vererbungsträger. Ergebnisse und Fortschritte der Zoologie. Bd. I. 1907.
19. —— Ergebnisse und Ausblicke in der Keimzellenforschung. Zeitschr. f. induct. Abstamm. u. Vererbungslehre. Bd. III. 1910.
20. Hof. Histologische Studien an Vegetationspunkten. Bot. Centralbl. Bd. LXXVI. 1898.
21. Janssens. L'évolution des auxocytes mâles du Batrachoceps attenuatus. Cellule. T. XXI. 1905.
22. Kowalski. Reconstruction du noyau et formation des chromosomes dans les cinèses somatiques de la larve du Salamandre. Cellule. T. XXI. 1904.
23. Lundegardh. Über Kernteilung in der Wurzelspitze von Allium cepa und Vicia faba. Sonderabdruck aus Svensc. Bot. Tidsckrift. Bd. IV. 1910.
24. —— Das Karyotin im Ruhekern und sein Verhalten bei der Bildung und Auflösung der Chromosomen. Arch. f. Zellforsch. Bd. IX. 1912.
25. Martins Mano. Nucléole et chromosomes dans le meristème radiculaire de Solanum tuberosum et Phaseolus vulgaris. Cellule. T. XXII. 1905.
26. Merriman. Vegetativ Cell Division in Allium. Bot. Gaz. Vol. XXXVII. 1902.
27. Meves. Es gibt keine parallele Conjugation der Chromosomen. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908.
28. Mottier. Über die Chromosomenzahl bei der Entwicklung der Pollenkörner von Allium. Berichte der deutsch. botan. Gesellschaft. Bd. XV. 1897.
29. Müller. Kernstudien an Pflanzen. I. u. II. Arch. f. Zellforsch. Bd. VIII. 1912.
30. —— Über karyokinetische Bilder in der Wurzelspitze von Yucca. Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XLVII. 1909—1910.
31. Némec. Über karyokinetische Kernteilungen in der Wurzelspitze von Allium cepa. Jahrbücher für wiss. Botanik. Bd. XXXIII. 1899.
32. Overton. On the Organization of the Nuclei in the Pollen-Mothercells of certains plants with especial Reference to the Permanence of the Chromosomes. Ann. of Bot. Vol. XXIII. 1909.
33. Schaffner. Karyokinesis in the root-tips of Allium cepa. Bot. Gaz. Vol. XXVI. 1898.
34. Schneider. Histologische Mitteilungen III. Chromosomengenese. Festschrift zum 60. Geburtstag Richard Hertwigs. Bd. I. 1910.
35. v. Schustow. Über Kernteilungen in der Wurzelspitze von Allium cepa. Vorläufige Mitteilung. Anatom. Anzeiger. Bd. XLIII. 1913.
36. Sykes. Nuclear Division in Funkia. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908.
37. Vejdovsky. Zum Problem der Vererbungsfrage. 1911—1912.
38. Wassermann. Zur Eireifung von Zoogonus mirus, ein Beitrag zur Synapsisfrage. Verhandl. der anatom. Gesellschaft auf der 26. Versammlung in München. 1912.

Tafelerklärung.

Alle Abbildungen wurden mit dem Abbeschen Zeichenapparat auf Arbeitstischhöhe entworfen, stets unter Benutzung einer Zeissschen Immersionslinse von 2 mm Brennweite und num. Apert. 1,30 und Ocular 18.

Tafel XIV.

Fig. 1. Metaphase: 16 längsgespaltene Chromosomen. Rechts unten ein Chromosom noch in Prophasenstellung, links oben beginnende Anaphase.

Fig. 2. Äquatorialplatte in Polansicht. 16 Chromosomen längsgespalten, die meisten quersegmentiert.

Fig. 3. Beginnende Anaphase. Jederseits 16 einfache Chromosomen meist in Stäbchenform.

Fig. 4. a) Querschnitte der Metaphasenchromosomen. b) Querschnitt des Anaphasenchromosoms.

Fig. 5. Anaphase.

Fig. 6. Tangentialschnitt einer Anaphase. Vacuolen in den Chromosomen.

Fig. 7 u. 8. Chromosomenquerschnitte der späteren Anaphase.

Fig. 9. Tassement polaire. Kontraktionszustand der Chromosomen.

Fig. 10. Ein unmittelbar darauf folgendes Stadium. Auflösung des Kontraktionszustandes. Beginn der Umlagerungen der chromatischen Substanz. Die Chromosomen sind unabhängig voneinander.

Fig. 11 u. 12. Telophasenkerne. Immer deutlichere Verteilung der chromatischen Substanz auf zwei Fäden, zwischen diesen eine helle Zone.

Fig. 13. Telophasenkern. Die chromatischen Fäden zeigen Anschwellungen, wahrscheinlich Beginn der Anastomosenbildung.

Fig. 14 u. 15. Telophasenkerne mit ausgebildeten Anastomosen.

Fig. 16 u. 17. Übergang in den Ruhekern. Veränderung der Kernform.

Fig. 18. Querschnittsbild eines späten Telophasenstadiums.

Fig. 19. Ruhekern aus der meristematischen Zone (»Intermediärkern«). Im Kernnetz deutliche Fädchenpaare.

Fig. 20. Anschnitt eines Intermediärkerns zeigt die oberflächlich gelegenen Fädchenpaare.

Fig. 21. Typischer Ruhekern (Sublimat-Eisessig fix.).

Fig. 22. Pleromruhekern (Flemming fix.).

Tafel XV.

Fig. 23. Periblemruhekern (Flemming fix.).

Fig. 24. Dermatogenruhekern (Flemming fix.).

Fig. 25. Prophasenkern (Flemming fix.).

Fig. 26. Beginn der Prophase. Anordnung der chromatischen Substanz in Fädchen, die paarweise verlaufen.

Fig. 27 u. 28. Sehr frühe Prophase, paarweiser Verlauf der chromatischen Fäden.

Fig. 29—33. Weitere Entwicklung der Prophase. Innere Differenzierung des Chromatins in jedem Chromosom in eine dünne Außenzone und helle Innenzone (vgl. die opt. Querschnitte der Fig. 33 und der Fig. 4*a*). Dickenzunahme der Chromosomen. Ausbildung der definitiven Chromosomen aus den Fädchenpaaren der frühen Prophase. Während der ganzen Prophase deutliches Getrenntbleiben der Chromosomhälften.

Fig. 34. Späte Prophase. Der Schnitt enthält die ganze Zelle. Dicker Schnitt: die Zusammensetzung jedes Chromosoms aus zwei Hälften ist verdeckt bis auf die zwei rechts befindlichen Chromosomen, deren Hälften nur an den Enden zusammenhängen.

Fig. 35 u. 36. Sehr späte Prophase, Auflösung der Kernmembran. 16 längsgespaltene Chromosomen.

Fig. 37. Zwei Anaphasenkerne übereinandergelagert vom Pol aus gesehen, in jedem 16 einfache Chromosomen.

Fig. 38. Späte Prophase.

Tafel XVI.

Fig. 39*a*. Telophase, zeigt die Unabhängigkeit der Chromosomen vom Nucleolus, aufgezeichnet im gemischten Licht. Nucleolenfärbung nach Montgomery.

Fig. 39*b*. Dieselbe Zelle, aufgezeichnet in monochromatischem Licht. Vortäuschung eines »Chromatinknotens«.

Fig. 40*a*. Frühe Prophase. Paarweise Anordnung der Fädchen. Nucleolenfärbung nach Montgomery. Aufzeichnungen im gemischten Licht.

Fig. 40*b*. Dieselbe Zelle wie in Fig. 39*a*, aufgezeichnet im monochromatischen Licht. Die Fädchenpaare scheinen von dem nun genau wie die Fädchen gefärbten Nucleolus auszustrahlen.

Fig. 41*a*. Spätere Prophase, aufgezeichnet in gemischtem Licht.

Fig. 41*b*. Dieselbe Zelle aufgezeichnet im monochromatischen Licht.

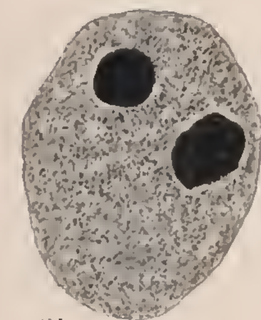
Fig. 42*a* u. *b*. Ganz späte Prophase, aufgezeichnet im gemischten und monochromatischen Licht, zeigt dieselben Verhältnisse wie Fig. 40*a* und *b* und Fig. 41*a* und *b*.

Fig. 43*a* u. *b*. Metaphasenkern aufgezeichnet im gemischten und monochromatischen Licht. Vorhandensein des Nucleolus noch in der Metaphase. Der rotgefärbte Nucleolus der Fig. 43*a* sieht in der Fig. 43*b* wie ein Chromosomenquerschnitt aus.

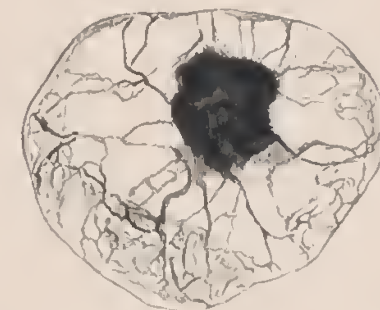
Fig. 44*a* u. *b*. Metaphasenkern mit Nucleolus, der in Fig. 44*b*, im monochromatischen Licht aufgezeichnet, einen Chromosomenquerschnitt vortäuscht.


1
2.
3
5
6.
7
8.
9
10.
11.
12
13.
14.
15.
16.
17.
18.
19.
20.
21
22
b
a

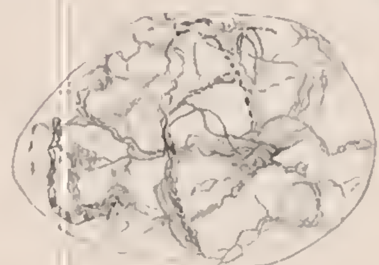

23.

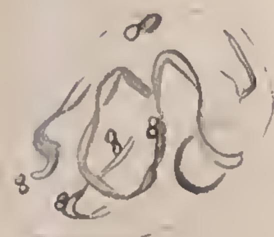

24.

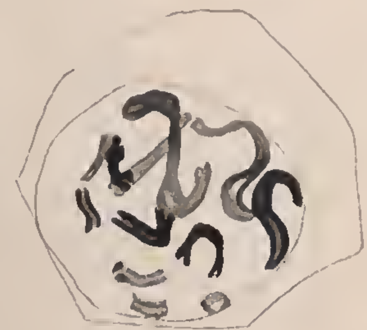

25


26.

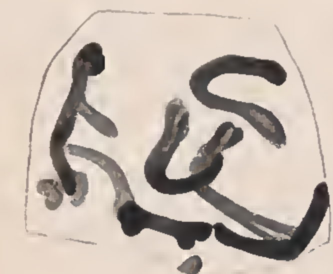

28

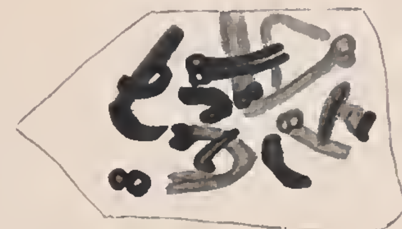

27.

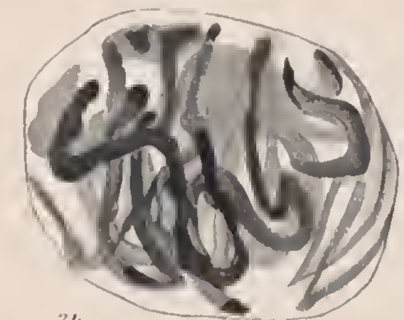

29


30.


31.


32.

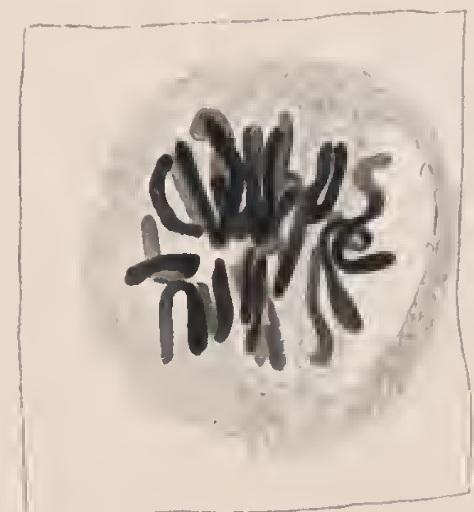

33


34.


35.


36.


37

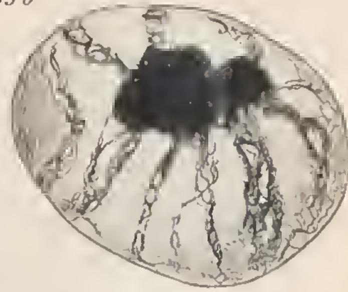

38

Schustow gez. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena

39 a



39 b



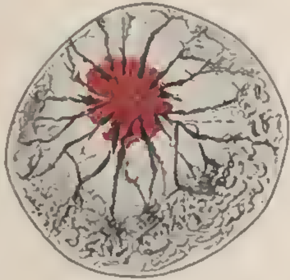
41 a



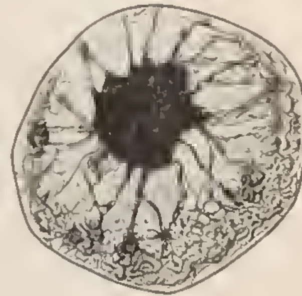
41 b



40 a



40 b



42 a



42 b



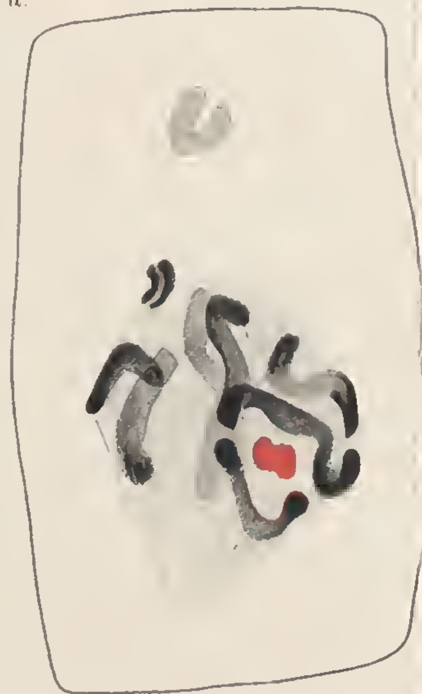
43 a



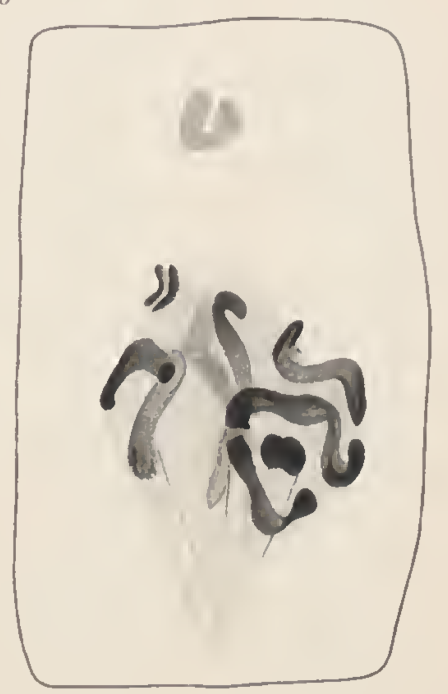
43 b



44 a.



44 b



A. Schustow gez. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin. Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Morphologie des Glykogens während Eibildung und Embryonalentwicklung von Wirbellosen.

Von

Wilhelm Brammertz.

(Aus dem Zoologischen Institut München.)

Mit Tafel XVII.

Inhalt.

Einleitung.

Seit der Entdeckung des Glykogens durh Claude Bernard hat sich eine große Anzahl von Physiologen, Anatomen und Zoologen mit diesem Kohlehydrat beschäftigt. Die große Bedeutung, die es für den Wirbeltierorganismus hat, ist durch die Arbeiten Claude Bernards und seiner ungezählten Nachfolger längst erkannt. Ebenfalls Claude Bernard hat sein Vorkommen bei Wirbellosen entdeckt und zwar bei Würmern (*Taenia*, *Lumbricus*) und Arthropoden (Fliegenlarven), und auch hier folgten bald andre Untersucher nach. Bizio (1866, 1881) wies bei einer Reihe von Mollusken Glykogen chemisch nach. Picard (1874) fand es bei Spongien und Echinodermen, bei Arthropoden Vitzon, Kirch u. a. in den Geweben des Flußkrebses usw. Bütschli beschrieb das Vorkommen eines dem Glykogen ähnlichen Stoffes bei Gregarinen und später gelang es auch. echtes Glykogen bei einer großen Anzahl von Protozoen nachzuweisen (vgl. v. Fürth, 1903).

Morphologische Untersuchungen liegen verhältnismäßig wenige vor, wenn auch schon früh sich das Bestreben zeigte, neben dem chemischen Nachweis mikrochemische Reaktionen vorzunehmen. Barfurth veröffentlichte 1885 als erster eine größere, mit Abbildungen versehene Arbeit über das Glykogen bei Mollusken, speziell *Helix pomatia*. Trotzdem das Vorkommen von Glykogen in den weiblichen Geschlechtsprodukten von Wirbellosen bei einer großen Anzahl von Tieren schon lange, schon den ersten Untersuchern bekannt war, liegen über diesen Punkt bis heute nur sehr spärliche Mitteilungen vor. Es sind hier zu nennen die Arbeiten von Brault und Loeper (1904), Busch (1905—06) über Glykogen in Eizellen und Embryonen von Nematoden und Cestoden und aus jüngster Zeit die Untersuchung von v. Kemnitz, deren Resultate im Laufe dieser Arbeit besprochen werden. Der Plan der vorliegenden Arbeit war daher, bei einer Anzahl von Vertretern verschiedener Klassen der Wirbellosen die Morphologie des Glykogens im Ei und während der Embryonalentwicklung festzustellen und daraus womöglich Schlüsse auf die Bedeutung jener Reservesubstanz für die ersten Entwicklungsvorgänge zu ziehen. Die Arbeit stellt so ein Glied in einer Reihe von Untersuchungen über die Morphologie des Glykogens dar, die auf Anregung von Prof. Goldschmidt im hiesigen zoologischen Institut teils ausgeführt wurden, teils noch bearbeitet werden.

Es sei mir gestattet, an dieser Stelle allen denen zu danken, die mich bei meiner Arbeit unterstützt haben. Mein ganz besondrer Dank gehört meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimrat Richard von Hertwig,

sowie Herrn Prof. RICHARD GOLDSCHMIDT, der die Anregung zu der vorliegenden Untersuchung gab und durch sein ständiges Interesse den Fortgang der Arbeit förderte.

Material und Methoden.

Als Material zu der vorliegenden Untersuchung dienten Ovarien, Eier und Embryonen verschiedener Formen aus verschiedenen Klassen der Wirbellosen. Über die Art der Gewinnung des Materials wird bei den einzelnen Vertretern gesondert berichtet. Als Fixierungsflüssigkeit wurde fast ausschließlich CARNOYsche Flüssigkeit verwendet, die das Glykogen nicht löst, und durchwegs eine gute Fixierung ergab. Eingebettet wurde in Paraffin, ohne daß Lösungserscheinungen bei der nachfolgenden Färbung zu bemerken waren. Die Schnitte wurden meistens trocken aufgeklebt, nachdem der Objektträger mit einer möglichst dünnen Schicht Eiweißglyzerin bestrichen war. In den Fällen, wo die Kleinheit des Objektes oder des zu schneidenden Blockes ein trocknes Aufkleben unmöglich machte, wurde mit 50—55% Alkohol aufgeklebt, doch trat bei diesem Verfahren manchmal eine partielle Lösung des Glykogens ein. Die entparaffinierten Schnitte wurden nach ARNOLD (1909) mit einer dünnen Celloidinschicht überzogen, um eine Kernfärbung mit DELAFIELDscher oder Alaun-Hämatoxylinlösung (nach P. EHRLICH) zu ermöglichen. Die Schnitte wurden dann gewässert, bis eine Bläuung eingetreten war, ohne daß beim Vergleich mit nur auf Glykogen gefärbten Präparaten eine Lösung des Glykogens zu bemerken gewesen wäre. Die Celloidinschicht wurde dann entfernt, die Färbung auf Glykogen nach BEST (1906) vorgenommen und die differenzierten und entwässerten Präparate durch Xylol in Kanadabalsam eingeschlossen. Als Kontrolle für die Richtigkeit der BESTschen Färbung wurde die Jod- und Speichelreaktion in allen zweifelhaften Fällen vorgenommen. Auch die von P. MAYER (1909) zur Färbung des Glykogens angegebene Gallustinte kam zur Anwendung, doch lieferte sie nicht so kontrastreiche Bilder wie das BESTsche Karmin, dem daher der Vorzug gegeben wurde. Für spezielle Zwecke wurde Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN angewandt.

Ascaris megalocephala.

Das *Ascaris*-Ei zeigt in seinem Entwicklungsgang eine Reihe von Besonderheiten. Hauptsächlich durch BOVERIS Untersuchungen (1892, 1899) ist die Erscheinung der Kerndiminution bekannt, die darin besteht, daß auf dem Zweizellenstadium in der einen Tochterzelle (S_1) die schleifenförmigen Chromosomen ihre Enden abwerfen und gleichzeitig die Mittel-

stücke in eine große Anzahl von kleineren Einzelchromosomen zerfallen. In der andern Tochterzelle (P_1) bleiben die großen schleifenförmigen Chromosomen erhalten. Auf dem Vierzellenstadium wird wiederum in einer der durch Teilung von P_1 entstandenen Zellen der Prozeß der Diminution wiederholt, während S_1 mit den diminuierten Chromosomen die Teilung vollzieht. Von den vier Zellen enthält also nur eine die ursprünglichen Chromosomen. Der Vorgang der Diminution wird viermal wiederholt. von diesem Moment ab gehen aus der als P_4 bezeichneten Zelle durch Teilung nur noch Zellen hervor, deren Chromosomen nicht mehr diminuiert werden, die die Geschlechtszellen des jungen Tieres vorstellen. Die Zellen mit diminuierten Chromosomen liefern durch ihre weiteren Teilungen die übrigen, die somatischen Zellen des Embryo. Den ursächlichen Faktor für die Erscheinung der Kerndiminution, mit der Hand in Hand ein bestimmter, nicht veränderlicher Wert der Zellen geht, sucht Boveri in Verschiedenheiten der protoplasmatischen Beschaffenheit, auf die später noch eingegangen wird. Durch eine Reihe von Befunden und experimentellen Untersuchungen an normalen, besonders aber doppeltbefruchteten und zentrifugierten Eiern (1904, 1910, Boveri und Hogue 1909, Boveri und Stevens 1904) hat er mit zwingender Notwendigkeit die Unumgänglichkeit dieser Annahme bewiesen.

Durch die im Laufe der Untersuchung noch eingehender zu besprechenden Arbeiten Brault und Loepers (1904), Buschs (1905—6) und v. Kemnitz' (1911) wissen wir, daß das *Ascaris*-Ei Glykogen in großen Mengen enthält. Die Fragestellung, die den Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit gab, lautete daher: Spielt das Glykogen bei der Auslösung der Kerndiminution als mitbestimmender Faktor eine Rolle und lassen sich aus der Glykogenverteilung Schlüsse auf einen Zusammenhang zwischen der Potenz der Zellen und der Anwesenheit des Glykogens ziehen?

Zunächst einige Worte über die Methodik. Die dem lebensfrischen Pferdedarm entnommenen Tiere wurden in physiologische Kochsalzlösung von 37° gebracht, die Uteri herauspräpariert, diese zum Teil gleich fixiert, zum Teil nach Boveris Angaben auf Objektträger gebracht und zur Weiterentwicklung in feuchten Kammern aufgehoben. Die Entwicklung dauert bekanntlich in Zimmertemperatur etwa 3 Wochen, kann aber, dadurch daß man die Eier in höhere oder niedere Temperatur bringt, beliebig rascher oder langsamer gestaltet werden. In regelmäßigen Abständen wurden Teile der Geschlechtsschläuche fixiert, nachdem vorher an einer Probe unter dem Mikroskop ungefähr das Stadium festgestellt worden war. Es entwickelten sich nicht alle Embryonen gleichmäßig, die mehr

an der Peripherie gelegenen schneller als die im Innern von Luft und Wärme abgeschlossenen. Über die Fixierungsmethode und die Färbung ist schon oben berichtet. Eingebettet wurde durch Xylol, Xylol-Paraffin in 56° und 60° Paraffin, was bei genügender Vorsicht und langsamem Übertragen keine Schrumpfung ergab. In Paraffin blieben die Stücke in der Regel etwa zwei Stunden. Die Schnittdecke betrug 5—15 μ.

Über die Glykogenablagerungen im Ovar von *Ascaris* besitzen wir die Untersuchungen von v. Kemnitz (1912). v. Kemnitz fand in sehr jungen Ovarialröhren die Ovogonien selbst frei von Glykogen, das Follikelepithel dagegen zeigt reichliche Anhäufungen. Auf späteren Stadien enthalten Ovogonien und Wandepithelzellen gleich viel Glykogen, während die Rhachis frei davon bleibt oder nur Spuren aufweist. Gegen Ende der Wachstumperiode findet sich in den Ovogonien Glykogen in sehr beträchtlichen Mengen, während jetzt das Wandepithel frei ist.

Ausführliche Untersuchungen über die Art und Weise, wie das Glykogen bei der Embryonalentwicklung verbraucht wird, besitzen wir nicht. Busch (1905—06) wies in den weiblichen Geschlechtsprodukten von *Ascaris megalocephala*, *Ascaris lumbricoides*, *Oxyuris vermicularis*, *Sclerostomum armatum* und *Ankylostomum duodenale* mittels der Jodmethode Glykogen nach, während im vorhergehenden Jahre (1904) Brault und Loeper in reifen Eiern und Embryonen von *Strongylus* (*filaria* und *refuscens*) beträchtliche Mengen von Glykogen gefunden hatten. Außerdem liegt noch eine Angabe von Marcus (1906) vor, der bei *Ascaris mystax* auf dem Zweistellenstadium schon eine sehr beträchtliche Abnahme des Glykogens feststellte. Die Richtigkeit dieses Befundes ist durch v. Kemnitz bezweifelt worden, findet aber durch die im folgenden mitzuteilenden Befunde bei *Ascaris megalocephala* eine gewisse Bestätigung. Die große Menge Glykogen, die sich in den von Brault und Loeper abgebildeten *Strongylus*-Embryonen findet, läßt sich meiner Ansicht nach nur so erklären, daß es sich um junge Tiere handelt, die schon selbständig Nahrung aufgenommen und Glykogen gebildet haben. Besonders wahrscheinlich erscheint das, da sich, nach den Abbildungen zu urteilen, die Untersuchungen auf freie, nicht mehr in eine Schale eingeschlossene Tiere beziehen.

Das Ei, das kurz vor der Befruchtung steht, zeigt in seinem Plasma große Mengen Glykogen, so daß das ganze Ei vollständig von größeren und kleineren Glykogentröpfchen erfüllt erscheint.

Schon frühere Untersucher (A. Schneider 1883, Nussbaum 1884, Boveri 1888, Erlanger 1897), die sich mit dem Studium der Struktur des Protoplasmas des *Ascaris*-Eies befaßt haben, beschreiben übereinstim-

mend in dem aus einem bald feinfädigen, bald weitmaschigen protoplasmatischen Gerüstwerk, das sich auf einer homogenen Grundsubstanz ausbreitet, größere und kleinere Dotterkörner, die als Kugeln oder als Kristalle bezeichnet werden. Die leichte Löslichkeit dieser am lebenden Objekt beobachteten Substanz wird betont. Was hier den Untersuchern vorlag, war zweifellos Glykogen. Denn dieses liegt, wie sich aus mit Bestschem Karmin gefärbten Präparaten ergibt, ebenso wie die Kristalle und glänzenden Kugeln der früheren Beobachter in der Grundmasse zwischen dem protoplasmatischen fädigen Gerüst (s. Fig. 1 und v. Kemnitz, Fig. 4, 5, 43).

Wird das Ei befruchtet, so tritt in der Region des zerfallenden Glanzkörpers des Spermatozoons in der Regel ein stärkerer Abbau von Glykogen ein. v. Kemnitz möchte annehmen, daß dies durch ein vom Glanzkörper in das Ei gebrachtes Ferment veranlaßt wird. Über Glykogen und Richtungskörperbildung sagt v. Kemnitz Folgendes: »Die Regel ist, daß in unmittelbarer Umgebung der Richtungsspindel sich besonders reichlich Glykogen findet... Es scheint gerade in der Umgebung der Richtungsspindel keine oder nur eine äußerst geringe Spaltung des Glykogens vor sich zu gehen. Die Richtungsspindel liegt vielmehr in den Glykogenschollen so eingekeilt, daß es fast wunder nehmen muß, wie die Richtungskörperbildung glatt von statten gehen kann, wobei man freilich nicht vergessen darf, daß man im Leben mit einem halbflüssigen Zustand des Glykogens rechnen muß...« (v. Kemnitz, Fig. 4). Nach meinen Untersuchungen scheint der von v. Kemnitz beschriebene Zusammenhang zwischen Glykogen und Reifeteilungen nicht zu bestehen, sicher nicht als Regel. Ebenso oft sah ich auch während der Reifeteilungen eine vollständig gleichmäßige Verteilung des Glykogens (s. v. Kemnitz, Fig. 43) im ganzen Ei, ohne daß sich in der Gegend der Richtungsspindel eine stärkere Anhäufung zeigte. Manchmal schien es sogar, als ob gerade in der Umgebung der Teilungsfigur ein stärkerer Verbrauch von Glykogen stattfände, sodaß das morphologisch wechselnde Bild gar keinen direkten Zusammenhang zwischen Glykogen und Reifeteilungen erschließen läßt. Die Richtungskörper enthalten übrigens, wenn sie ausgestoßen werden, oft auch kleine Mengen von Glykogen.

Bei der Ausbildung der Vorkerne, die sich auch noch im Innern des mütterlichen Uterus vollzieht, geht der starke Abbau des Glykogens weiter, der dem Untersucher besonders sinnfällig vor Augen tritt, wenn zufällig ein unbefruchtetes Ei im gleichen Gesichtsfelde liegt mit Eiern, in denen die Vorkerne schon ausgebildet sind.

Werden die Eier abgelegt, so ist ihr Glykogengehalt viel geringer

als der auf früheren Stadien. Auch in bezug auf die Färbbarkeit und Form des noch vorhandenen Glykogens ist ein Unterschied bemerkbar. Während sich das Glykogen in Befruchtungs- und Vorkernstadien sehr distinkt in Form von groben und feinen Schollen nachweisen ließ, erhielt ich auf späteren Stadien in weitaus den meisten Fällen nur eine sehr diffuse Färbung, sodaß es lange zweifelhaft schien, ob es sich hier überhaupt noch um Glykogen handle. Erst der positive Ausfall der oft wiederholten Speichel- und Jodprobe ließ es als unzweifelhaft erscheinen, daß doch Glykogen vorlag. Es blieb daher nichts anders anzunehmen, als daß eine Änderung des Aggregatzustandes des Glykogens eingetreten ist: Während für die jüngsten Stadien der Entwicklung von *Ascaris* sicher eine im Leben dickflüssige Konsistenz des Glykogens angenommen werden muß, ist mit dem Verbrauch zugleich eine stärkere Verflüssigung wahrscheinlich; nur in Fällen, in denen der Glykogenreichtum der Eier ein sehr großer war (daß der Glykogengehalt der Eier je nach dem Ernährungszustand des Muttertieres gewissen, wenn auch nicht allzu großen Schwankungen unterworfen ist, braucht wohl kaum besonders betont zu werden), gelang es noch auf dem Zweizellenstadium Glykogen in feinsten Tröpfchen nachzuweisen. In allen übrigen Fällen und immer auf späteren Stadien erhielt ich eine vollkommen diffuse Färbung.

Das ungefurchte *Ascaris*-Ei besitzt im Leben eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Heteropolie des Plasmas, sodaß man oft schon am ungeteilten Ei zwei Hälften unterscheiden kann, die bei der Teilung in eine größere dotterarme, nach zur Strassen als dorsale bezeichnete, und eine kleinere, dotterreichere, ventrale genannte Zelle zerlegt werden. Im fixierten und gefärbten Ei läßt sich die Heteropolie nicht mehr feststellen, weder an Präparaten, die mit den gebräuchlichen Plasmafarbstoffen behandelt werden, noch an solchen, die auf Glykogen hin gefärbt sind. Auf dem Zweizellenstadium ist mit Sicherheit eine gleichmäßige Verteilung des vorhandenen Glykogens auf beide Zellen zu konstatieren. Während der Teilung bis zur Ausbildung der Ruhekerne liegt das Glykogen in den peripheren Partien der Zellen, während in der näheren Umgebung der Spindel und der in Bildung begriffenen Ruhekerne Glykogen in der Regel nicht oder nur in Spuren nachweisbar ist (Fig. 1). Dies scheint darauf hinzuweisen, daß in der Umgebung der Teilungsfigur ein stärkerer Verbrauch stattfindet als in den übrigen Teilen der Zelle. Dieses Verhältnis von Glykogen und Teilungsfigur besteht auch in allen späteren Teilungen. Während dieser ist eine weitere ständige, im Verhältnis zu der kurz nach der Befruchtung beobachteten, allerdings sehr minimale Abnahme des Glykogens zu verzeichnen. Aber es läßt sich in keiner Weise irgend

ein größerer oder geringerer Glykogengehalt einer bestimmten Zelle oder bestimmter Zellengruppen als Regel feststellen, die darauf schließen ließe, daß ein Zusammenhang zwischen Kerndiminution und Glykogen oder auch zwischen Potenz der Zellen und Glykogen besteht. Die definitive Entscheidung mußte das Stadium geben, wo die Urgeschlechtszelle als solche endgültig bestimmt ist und ihre weiteren Abkömmlinge ihre Chromosomen nicht mehr diminuieren. Eine eingehende Untersuchung vieler Hunderter dieser Stadien ergab ein vollkommen negatives Resultat: Eine Bevorzugung oder Benachteiligung der Urgeschlechtszelle in bezug auf ihren Glykogengehalt findet sich nicht. Wenn es auch in einigen Fällen so schien, als enthielte die als P_4 bezeichnete Urgeschlechtszelle mehr Glykogen als die somatischen Zellen, so standen dem all die übrigen Fälle gegenüber, die eine vollkommen gleichmäßige Verteilung klar erwiesen. Und sollte sich ein Zusammenhang finden, so müßte er doch in der überwiegenden Mehrzahl zu konstatieren sein.

Bei den weiteren Teilungen, die dann zur schließlichen Ausbildung des Embryo führen, ist ein Fortschreiten des Glykogenverbrauchs morphologisch überhaupt nicht mehr konstatierbar. Glykogen ist immer noch in kleinen Mengen in den Furchungszellen und den Zellen des Embryo vorhanden. Ich habe niemals einen Embryo gefunden, in dem sich nicht noch Glykogen hätte nachweisen lassen. Daß es sich in diesem Falle wieder um Kohlehydrat handelt, das vom jungen Tier neugebildet ist, scheint ausgeschlossen, da wohl kaum eine Nahrungsaufnahme des noch in der Eihülle eingeschlossenen Embryo anzunehmen ist, ferner auch die Menge des im Embryo darstellbaren Glykogens keinen wesentlichen Unterschied gegenüber den letzten Furchungsteilungen zeigt.

Versucht man nun, für diese Befunde — starke Abnahme des Glykogens während und kurz nach der Befruchtung, allmählicher langsamer Verbrauch während der Furchungsteilungen, der aber nie zu einem völligen Verschwinden des vorhandenen Glykogens führt — eine Erklärung zu finden, so ergibt sich diese vielleicht aus Folgendem: Warburg (1908) hat durch Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs bei unbefruchteten und befruchteten Seeigeleiern festgestellt, daß der Verbrauch an Sauerstoff nach der Befruchtung auf das 6—7fache des der unbefruchteten Eier steigt und auch während der Furchungsteilungen auf ungefähr derselben Höhe bleibt. Anderseits wissen wir durch Weinlands Untersuchungen über den Stoffwechsel von *Ascaris* (1901 und 1902), daß *Ascaris* zu den anaeroben Organismen gehört, d. h. daß die zur Aufrechterhaltung der Lebensvorgänge nötige Energie durch einen gärungsartigen Prozeß, durch

Spaltung des Glykogens in Kohlensäure und eine niedere Fettsäure (hauptsächlich Valeriansäure) erhalten wird.

Bei Berücksichtigung dieser beiden Untersuchungsergebnisse lassen sich die oben mitgeteilten Befunde bei *Ascaris* so erklären: Die Embryonalentwicklung geht bis zur Vorkernbildung im mütterlichen Uterus vor sich; durch die Befruchtung tritt ein plötzliches Anschnellen des Energiebedarfes ein, den das *Ascaris*-Ei, welchem äußerer Sauerstoff nicht zur Verfügung steht, durch reichliche Spaltung des Glykogens deckt. Der starke Abbau ist morphologisch zu konstatieren bei Richtungskörperbildung und Vorkernbildung. Auf diesem Stadium wird das Ei abgelegt; da es damit auch bald ins Freie gelangt, so ist auch wohl von vornherein wahrscheinlich, daß das *Ascaris*-Ei ebenso wie das Seeigelei seinen Energiebedarf durch Entnahme von Sauerstoff aus dem umgebenden Medium deckt (vgl. Weinland, 1901, S. 67). Da jetzt eine bessere Ausnutzung des Glykogens durch Spaltung in niedere Zucker und Verbrennung dieser zu Kohlensäure und Wasser möglich ist, wie sie sich beim aeroben Tier findet, da ferner die Entwicklung des *Ascaris*-Eies zeitlich viel langsamer verläuft als die des Seeigeleies, ergibt sich hieraus die Erklärung für die langsame, ständige Abnahme des Glykogens während der außerhalb des mütterlichen Uterus stattfindenden Embryonalentwicklung. Es wurde oben bemerkt, daß das Glykogen niemals völlig verschwindet, daß es sich vielmehr im jungen Tier immer noch in ziemlich beträchtlichen Mengen nachweisen läßt. Es ist bekannt, daß *Ascaris*-Eier unter gewissen Bedingungen[1]) sich auch im Alkohol entwickeln können, da ihre Schale undurchlässig gegen Alkohol ist. Meistens sterben jedoch die Eier auf verhältnismäßig frühen Stadien ab. Abgesehen davon, daß Alkohol mit Sauerstoff gesättigt ist, den das Ei zu seiner Entwicklung verbrauchen kann, ist auch nicht unwahrscheinlich, daß das bei normaler Entwicklung im fertigen Embryo noch nachweisbare Glykogen unter ungünstigen Entwicklungsbedingungen, wenn keine Möglichkeit vorhanden ist, Energie von außen zu erhalten, in ähnlicher Weise wie im anoxybiotischen Tier und dem im mütterlichen Uterus während Reifung und Befruchtung anoxybiotisch lebenden Ei gespalten wird. Ist dann diese Energiequelle verbraucht, und stehen dem Ei auch keine andern Energiequellen mehr zur Verfügung, was immerhin nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen wäre, so wird die Entwicklung sistiert. Der Embryo stirbt ab.

---

[1]) Welche Bedingungen dazu nötig sind, ist nicht bekannt; daß aber nur in wenigen Fällen eine Entwicklung eintritt, davon habe ich mich selbst überzeugt: Von etwa 100 in 70%igen Alkohol eingelegten Tieren waren in den 30 untersuchten Uteri die Eier in ihrer Entwicklung in keinem Falle über das Zweizellenstadium hinausgekommen.

Die Erscheinung, daß im Lebenscyklus eines anoxybiotischen Tieres ein oxybiotischer Abschnitt eingeschoben ist, kann weiter nicht wundernehmen. Es sei nur erinnert an den zur Familie der Anguilluliden gehörigen *Strongyloides intestinalis*, der eine getrennt-geschlechtliche, freilebende, oxybiotische Form hat, die in Generationswechsel steht mit einer hermaphroditen, im menschlichen Darm schmarotzenden Form. Oder es sei hingewiesen auf die bei vielen Insekten beobachteten Verhältnisse, z. B. bei der zu den Dipteren gehörigen *Anthomya canicularis*, deren Larve, die gewöhnlich auf faulenden pflanzlichen Stoffen lebt, auch im menschlichen Darm anaerob leben kann.

Fassen wir zum Schluß dieses Abschnittes die Resultate kurz zusammen. Die ursprüngliche Frage: Besteht ein Zusammenhang zwischen den Erscheinungen der Kerndiminution und der damit zusammenhängenden Potenz der Zellen? mußte verneint werden. Es ergab sich aber aus den Glykogenbefunden bei den im mütterlichen Uterus die ersten Entwicklungsstadien (Reifung und Befruchtung) durchlaufenden Eiern eine Bestätigung der von Warburg bei Seeigeleiern beobachteten Steigerung des Energiebedarfes durch die Befruchtung. Dieses Resultat, das bei Seeigeleiern mit physiologischen Methoden erhalten wurde, ist bei *Ascaris* durch deren aberrante Stoffwechselerscheinungen einer morphologischen Prüfung zugänglich. Aus den Glykogenbefunden bei den sich außerhalb des mütterlichen Tieres weiterentwickelnden Eiern konnte der Schluß gezogen werden, daß aller Wahrscheinlichkeit nach während dieser Zeit der Embryo normalerweise oxybiotisch lebt.

Die bei *Ascaris* erzielten Ergebnisse ließen es wünschenswert erscheinen, auch bei Repräsentanten aus andern Klassen der Wirbellosen Untersuchungen über die Morphologie des Glykogens anzustellen und event. aus den Befunden Schlüsse auf dessen Bedeutung und Verwendung zu ziehen.

Im folgenden sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen, die behandelten Formen nach dem System geordnet, mitgeteilt.

Mesostomum Ehrenbergii.

Es wurden Tiere untersucht, deren Geschlechtsorgane sowohl Ovogonien wie auch Ovocyten in allen Stadien enthielten bis zu solchen, die befruchtet waren und ihre Schale gebildet hatten. Da die Fixierung mit Carnoyscher Flüssigkeit keine brauchbaren Präparate lieferte, wurden die Tiere mit der von v. Kemnitz angegebenen Fett- und Glykogenfixierung konserviert, die zufriedenstellende Resultate ergab.

Ovogonien und junge Ovocyten enthielten niemals Glykogen, letztere

dagegen Spuren von Fett. Ersteres scheint erst kurz vor der Schalenbildung aufzutreten, dann in nicht unbeträchtlichen Mengen, die allerdings zu dem viel größeren Fettreichtum in keinem Verhältnis stehen. Dieser macht es geradezu unmöglich, Genaueres über die Form und Lagerung des auftretenden Glykogens festzustellen.

Glykogen scheint aber überhaupt in den weiblichen Geschlechtsprodukten der Turbellarien keine große Rolle zu spielen, wie sich aus den Resultaten der Untersuchung einer zweiten Form ergab.

Thysanozoon Brocchi.

Bei diesem Polycladen fand sich merkwürdigerweise im Gegensatz zu *Mesostomum* nur in ganz jungen Ovocyten, die das Ende der Wachstumperiode noch nicht erreicht hatten, Glykogen gleichmäßig durch das ganze Ei verteilt. In Eiern, die die Reifungsteilungen durchmachen, ist keine Spur von Glykogen mehr vorhanden, eben so wenig wie auf späteren Stadien jemals welches gefunden wird. Es geht daraus hervor, daß Glykogen bei *Thysanozoon* nur vorübergehend in der Ovogenese auftritt, um bei dem Wachstum der Ovocyte verbraucht zu werden.

Vor kurzem erschien eine Arbeit von J. Gelei über die Ovogenese von *Dendrocoelum lacteum*, in welcher der Verfasser auch Resultate über Glykogenuntersuchungen von Eizellen mitteilt. Glykogen trat bei dieser Form, ähnlich wie bei *Thysanozoon* in der Wachstumsperiode auf, immer fand es sich gegen Ende der Wachstumsperiode; die Masse war nicht abhängig von reichlicher oder nicht reichlicher Ernährung des Muttertieres. Die Reifeteilungen wurden nicht untersucht.

Ähnliche Verhältnisse wie bei *Thysanozoon* scheinen nach den gleichzeitig erscheinenden Untersuchungen von Ortner bei einigen Trematoden, *Fasciola hepatica* und *Polystomum integerrimum*, zu herrschen Bei diesen findet sich in den jungen Ovocyten Glykogen, das in dem zusammengesetzten Uterusei in der Eizelle verschwunden ist, während die Dotterzellen viel Kohlehydrat enthalten.

Aus den mitgeteilten Befunden ergibt sich, daß Glykogen in den Eizellen von Turbellarien und nach Ortners Untersuchungen auch bei Trematoden nur intermediär auftritt, um schon vor den Reifeteilungen wieder zu verschwinden.

Echinodermen.

Eine ausführliche Beschreibung der weiblichen Geschlechtsorgane der Echinodermen findet sich in der Arbeit von Cuénot: Etude morphologique sur les Echinodermes (1891). Über die Veränderungen, die

das Ovar im Laufe des Jahres zwischen den einzelnen Sexualperioden durchmacht, besitzen wir keine ausführliche Untersuchung. Der einzige, der darüber eine Mitteilung veröffentlichte, ist CAULLERY (1911). Er unterscheidet im Ovar, wie auch frühere Untersucher (Liter. s. CUÉNOT) zwei wohlgeschiedene Elemente: Erstens die Keimzellen und zweitens sphärische Zellen, deren Volumen fast ganz von einer hyalinen, großen Vacuole eingenommen wird, die nur durch eine schmale Schicht peripheren Protoplasmas begrenzt werden; in dieser Hülle findet man den Kern, außerdem überall verstreut eine große Anzahl Eiweißkugeln von verschiedenem Umfang. Diese Zellen nennt CAULLERY »cellules vésiculeuses«. In einer 1903 erschienenen kurzen Mitteilung hatten CAULLERY und SIEDLECKI diese Zellen zum ersten Male beschrieben und behauptet, daß ihnen phagocytäre Funktion zukomme, indem sie am Ende der Sexualperiode die nicht abgelegten Geschlechtselemente auffräßen. Diese »cellules vésiculeuses« CAULLERYS sind augenscheinlich identisch mit den von CUÉNOT und früheren Autoren beschriebenen cellules vitellines, die ebenso wie die Zellen CAULLERYS Dotterpartikel enthalten, die zur Ernährung der jungen Eizellen dienen.

Von einer phagocytären Funktion dieser Zellelemente schreibt CUÉNOT nichts. In der ersterwähnten Arbeit aus dem Jahre 1911 veröffentlicht CAULLERY nun seine weiteren Untersuchungen über die Beziehungen zwischen den Keimzellen und den »cellules vésiculeuses« während eines Jahrescyklus. Im reifen Ovar finden sich keine oder nur wenige dieser Zellgebilde, im degenerierenden Ovar dagegen treten sie in großen Mengen auf, um bei der neu eintretenden Sexualperiode wieder allmählich zu verschwinden. Ihre Neuentstehung im degenerierenden Ovar soll so vor sich gehen: »De la paroi partent vers la lumière, des lames de cellules vésiculeuses de nouvelle formation«.

Im Hoden soll die Entstehung etwas anders erfolgen: Schon auf dem Stadium der vollen Reife ließen sich in dem Keimepithel, das aus mehreren Reihen dichtgedrängter Zellen besteht (das Keimepithel des Ovars ist einschichtig). zwei Arten von Zellen unterscheiden, eine mehr zentrale Schicht, die normale Spermatocyten mit normalen Kernen enthält und eine periphere, deren Zellen einen etwas größeren und sehr wenig chromatophilen Kern besitzen. Im Hoden, bei dem die Entleerung der Spermatozoen schon stattgefunden hat, findet eine Umwandlung der Zellen der äußersten Schicht des Hodens statt, die durch ihren chromatinarmen, größeren Kern aufgefallen waren. »Il s'y était concrété dans le cytoplasma des groupes de sphérules de réserve et, par formation progressive d'une grande vacuole, les cellules ainsi modifiés écartent leurs voisines. Ainsi

se forme la génération nouvelle de cellules vésiculeuses qui sont des cellules de la couche périphérique intercalées au milieu des spermatogonies et peutêtre identiques à celles-ci.«

Ehe ich auf die Glykogenverhältnisse im Ovar der Seeigel und der übrigen untersuchten Echinodermen eingehe, möchte ich kurz meine Befunde über die Beziehungen zwischen Keimzellen und »cellules vésiculeuses« der Echiniden mitteilen. Die von mir untersuchten Ovarien (*Echinus microtuberculatus*) waren alle entweder auf dem Stadium, wo die Ablage der Eier erfolgt ist oder aber es waren solche, bei denen die allmähliche Bildung von jungen Ovocyten wieder begann. Hoden und völlig reife Ovarien wurden nicht untersucht.

Beginnen wir mit dem Moment, wo die Mehrzahl der Eier abgelegt ist, so finden wir von »cellules vésiculeuses« noch sehr wenig. Wie die erste Entstehung dieser Zellen ist, habe ich an meinem Material nicht feststellen können: daß sie zum Teil wenigstens wie Cuénot es angibt und Caullery es auch für wahrscheinlich hält, direkt als modifizierte Eizellen vom Keimepithel aus gebildet werden, kann jedoch kaum einem Zweifel unterliegen. Über eine andre Bildungsmöglichkeit gibt uns das Schicksal der im Ovar zurückgebliebenen Eier Auskunft. Diese erscheinen an verschiedenen Stellen des Ovars in Gruppen zusammenliegend. In der Nähe liegen meistens regellos oder in größeren Ansammlungen Leukocyten, die offenbar die Funktion haben, den Abbau der Eier zu veranlassen. Fig. 4 zeigt ein Bild, auf dem wir einen solchen Phagocytenhaufen auf der Wanderung zu einem Ei finden. Die Phagocyten dringen in das Plasma des Eies ein; dieses ballt sich zu stärker färbbaren Klumpen zusammen, die sich abrunden und später als Eiweißkugeln im ganzen Ovar verteilt erschienen. Bei diesem Prozeß nimmt das Plasma natürlich an Volumen ab; während der Kern, der sich immer weniger färbt, sodaß er schließlich als ein heller, fast gänzlich ungefärbter Fleck erscheint, an Größe zunimmt (Fig. 5). Diese Größenzunahme des Kernes ist wohl auf eine Änderung des osmotischen Druckes innerhalb des Eies zurückzuführen (Gelei 1913). Schließlich kommt es so weit, daß von der ursprünglichen Plasmasubstanz sich nur noch schwache Reste vorfinden, und in die ehemalige Kernhöhle eine Flüssigkeitsaufnahme aus der Umgebung stattfindet. Dies läßt sich aus den Bildern folgern, auf denen man ein zum Centrum des stark vergrößerten, jetzt vollkommen achromatischen Kernes gerichtetes Eindringen von feinsten Glykogentröpfchen sieht. Daß diesen sonderbaren Gebilden, die den Namen Zellen wohl kaum mehr verdienen, wie aus dem eben Mitgeteilten sich ohne weiteres ergibt, nicht, wie Caullery meinte, phagocytäre, sondern eine ernährende Funktion

zukommt, erhellt auch aus der Untersuchung der Glykogenverhältnisse im Ovar. In Eiern oder sich bildenden, noch am Keimepithel festsitzenden Ovocyten findet sich niemals Glykogen (Fig. 3); dies ist um so mehr auffallend, als bei der Degeneration der im Ovar zurückbleibenden Eier Glykogen in großen Mengen auftritt (Fig. 2). In den degenerierenden Eiern findet man zwar selbst auf den Stadien, wo die ursprüngliche Gestalt des Eies kaum mehr zu erkennen ist, wo also, wie vorher ausgeführt worden ist, das Plasma sich zusammenballt, der Kern aufquillt, noch keine Spuren von Glykogen. Es tritt erst auf, nachdem die ursprüngliche Eisubstanz vollkommen abgebaut ist, dann allerdings in großen Mengen. In den Stadien vollkommener Degeneration ist der Glykogengehalt am größten (Fig. 2), wenn das morphologische Bild einen Schluß auf die Quantität des vorhandenen Glykogens erlaubt, überhaupt der größte, den ich bei meinen Untersuchungen der Genitalorgane bei Wirbellosen gefunden habe. In Ovarien, die am Beginn einer neuen Sexualperiode stehen, bei denen die Neubildung junger Ovocyten beginnt, ist eine deutliche Abnahme des Glykogengehaltes zu konstatieren (Fig. 3). Es kann wohl kaum einem Zweifel unterliegen, daß das Glykogen beim Aufbau der neuen Sexualprodukte verwendet wird, ebenso wie die aus den degenerierten Eiern hervorgegangenen Eiweißkugeln. Letztere finden sich im Plasma der heranwachsenden Eier als kompakte oder einem Ruhekern ähnliche vacuolisierte Gebilde, wie es schon Cuénot beschrieben hatte.

Fassen wir die Resultate kurz zusammen, so ergibt sich: die »cellules vésiculeuses« Caullerys sind ihrer Entstehung nach degenerierte Eizellen ebenso wie die Eiweißkugeln Reste solcher sind, — außerdem ist noch die Möglichkeit vorhanden, daß sie direkt als umgewandelte Keimzellen vom Keimepithel aus gebildet werden. Phagocytäre Gebilde stellen sie sicher nicht dar, zu diesem Behufe sind besondere Phagocyten, deren Vorkommen im Ovar übrigens Cuénot und frühere Autoren schon beschrieben, während Caullery sie scheinbar nicht beobachtet hat, vorhanden; sie dienen vielmehr, wie auch ihr Glykogenreichtum erweist, zur Ernährung der am Keimepithel sich neu differenzierenden Keimzellen.

Die für die Echiniden beschriebene Existenz von zweierlei Elementen, Keimzellen und anderweitiger nach der Sexualperiode im Ovar auftretenden Gebilde sollen nach Caullery bei den übrigen Gruppen der Echinodermen nicht bestehen.

An dem mir zur Untersuchung vorliegenden Material (*Asterias glacialis* und *Holothuria spec*?) konnte ich ebenfalls eine analoge Erscheinung nicht feststellen, trotzdem bin ich nach den im folgenden mitgeteilten Ergebnissen der Ansicht, daß eine spezielle, an einem größeren

Material unternommene Untersuchung ähnliche Erscheinungen nachweisen würde.

Das *Asterias*-Ovar in voller Reife ist angefüllt mit Eiern, die ebenso wenig wie die Echinus- oder Holothurieneier Glykogen enthalten. In Ovarien, die zum Teil schon abgelaicht haben, sieht man an verschiedenen Stellen bindegewebige schwach glykogenhaltige Fortsätze der das Ovar umgebenden Bindegewebshülle in das Lumen des Ovars hervorragen, die sich stellenweise zu größeren Komplexen, in denen auch Glykogen enthalten ist, erweitern. Überall verstreut trifft man auch oft sehr große Ansammlungen von Leukocyten, doch gelang es nicht, in Eiern eingedrungene Phagocyten zu beobachten. Hier und da bemerkt man auch Eiweißkugeln, die denen der Echiniden glichen und auch ihrer Entstehung nach wie bei jenen sicher Reste der abgebauten Eier sind. Ovarien, bei denen die Degeneration der zurückgebliebenen Eier weiter fortgeschritten war, lagen nicht vor. Die untersuchten Holothurienovarien enthielten nur reife Eier, die kein Glykogen aufwiesen.

Aus der Untersuchung der Glykogenverhältnisse im Ovar der Echinodermen ergibt sich also, daß Glykogen nur zu Zeiten der Degeneration des Ovars nach dem Abbau der zurückgebliebenen Eier auftritt, um aller Wahrscheinlichkeit nach beim Aufbau der sich neu differenzierenden Keimzellen, die selbst niemals Glykogen enthalten, verbraucht zu werden. Also hier wieder eine andersartige Bedeutung dieses Kohlehydrats.

Crustaceen.

Cyclops sp.? Moina rectirostris, Gammarus pulex.

Die ersten drei untersuchten Crustaceenformen können zusammen behandelt werden, da bei allen sich das gleiche Resultat ergab. Von *Moina* wurden sowohl Ephippial- wie auch verschiedenartige Subitaneier auf Glykogen geprüft; von *Cyclops* und *Gammarus* im Sommer gefangene Tiere. Die *Cyclops*-Weibchen enthielten in den Eiersäckchen Embryonen auf ziemlich späten Stadien, bei denen mit Sicherheit, ebenso wie bei sämtlichen untersuchten Eiern von *Moina* und *Gammarus* Glykogen sich nicht nachweisen ließ.

Astacus fluviatilis.

In dem Plasma des heranreifenden, von einem Follikelepithel rings umgebenen Eies lassen sich zwei Schichten unterscheiden, eine schmälere, um das Keimbläschen ringförmig gelagerte, und eine zweite, die die gesamte übrige Ovocyte erfüllt und gegen die erste durch einen ganz schmalen ungefärbten Streifen abgesetzt ist (Fig. 6). Auf diesem Stadium finden

sich in keiner der beiden Schichten, in denen morphologische Verschiedenheiten der in ihnen enthaltenen Substanzen nicht festgestellt werden konnten, Glykogen. Erst bei dem weiteren Fortschreiten des Wachstums der jungen Ovocyte, gleichzeitig mit Beginn der Dotterbildung tritt in der das Keimbläschen umgebenden Schicht ein sehr feinkörniges Glykogen auf (Fig. 7). Diese Schicht erscheint jetzt nicht mehr als konzentrischer Kreis um das Keimbläschen, sondern sie sendet nach allen Seiten Fortsätze in den umgebenden Dotter aus, der viel grobscholliger ist als in den kleineren Eizellen. Auch in diesem Teil des Eies findet man vereinzelt wenige Glykogentröpfchen (Fig. 7). Will man mit Cremer (1902) annehmen, daß der Prozeß der Glykogensynthese ein fermentativer Vorgang ist (s. auch v. Kemnitz, S. 510), so müßte in dem vorliegenden Falle dem morphologischen Bild zufolge, diese Wirkung vom Kern ausgehen, der die Polymerisation des von außen aufgenommenen Zuckers veranlaßt. Was weiterhin mit dem Glykogen geschieht, konnte nicht untersucht werden, da die vorliegenden Ovarien keine späteren als die beschriebenen Stadien enthielten.

Bei *Astacus fluv.* findet sich also im Gegensatz zu den vorher behandelten Formen, speziell *Ascaris*, Glykogen in den heranreifenden Eiern nicht gleichmäßig durch die ganze Ovocyte verteilt, Glykogen tritt hier viel mehr in einer engbegrenzten Zone um den Kern auf, die Bildung scheint von diesem aus veranlaßt zu werden.

Apis mellifica.

Hauptsächlich durch die Arbeit von J. Straus (1911) ist die große Bedeutung, die das Glykogen bei der Metamorphose der Honigbiene besitzt, wenigstens in den Grundzügen erkannt. Morphologische Untersuchungen über Form und Lagerung, Aufbau und Verwendung des Glykogens sind weder bei der Honigbiene noch überhaupt bei Insekten, abgesehen von der später zu erwähnenden Untersuchung von Vaney und Conte (1910) bei *Bombyx mori*, gemacht worden.

Die von mir untersuchten Eier stammten aus Drohnenzellen. Ihr Alter betrug bis zu 48 Stunden; sie enthielten, wie die Untersuchung zeigte, Stadien von der Richtungskörperbildung bis zur vollständigen Ausbildung des Blastoderms.

Das eben abgelegte Ei, das gerade die Reifungsteilungen durchläuft, zeigt im Innern eine gleichmäßige Verteilung von einzelnen größeren und kleineren Glykogenanhäufungen, die ein unregelmäßiges, lappiges Aussehen haben. Sie liegen in den Zwischenräumen, die die einzelnen Plasmavacuolen (durch den Alkohol der Carnoyschen Flüssigkeit ausgewaschene

Fettröpfchen usw.) lassen. Konstant finden sich größere Anhäufungen in dem Keimhautblastem, das in seiner ganzen Ausdehnung rings um das Ei große Glykogenmassen in feineren und gröberen Tröpfchen enthält. An einer Stelle erstreckt sich diese Schicht tiefer ins Innere des Eies und bildet hier das sogenannte Richtungsplasma. Dieses zeigt denn auch beträchtliche Ablagerungen von Glykogen. Ein starker Verbrauch während der Richtungskörperbildung ist im Gegensatz zu *Ascaris* nicht wahrnehmbar (Fig. 8). Erst während der Furchungsteilungen läßt sich ein solcher konstatieren. Die Furchungskerne, die sich im Innern des Eies bilden, enthalten in dem sie umgebenden Plasma Glykogen in Form von feinsten Tröpfchen, das der Menge nach während der fortschreitenden Teilung immer mehr abnimmt (Fig. 9). Rücken die Kerne zur Bildung des Blastoderms an die Peripherie, so enthält der ihnen zugehörige Plasmahof, der im Laufe der Furchungsteilungen an Größe stark abgenommen hat, Glykogen nur noch in Spuren. Die Zellen des ausgebildeten Blastoderms enthalten nun wieder Glykogen in größerer Menge; es ist wohl anzunehmen, daß sie den Vorrat des Keimhautepithels in sich aufnehmen. Besonders eigenartig sind die Kerne, die im Innern zurückbleiben, und als Dotterkerne (O. Dickel, 1904) bezeichnet werden; sie machen teilweise eine sonderbare Veränderung durch. Der eine, größere Teil rückt auf den einen Pol des Eies zu und beteiligt sich wahrscheinlich an der Bildung des Entoderms (s. Dickel, S. 495), während der kleinere Teil zurückbleibt und zweifellos die Funktion hat, beim Abbau des Dotters tätig zu sein (vgl. Nachtsheim, 1913). Doch schon auf Stadien, wo die Bildung des Blastoderms noch nicht beendet ist, läßt sich eine tiefgreifende Veränderung in dem Aussehen dieser Dotterkerne konstatieren. Der Kern wächst heran, wird immer weniger chromatisch färbbar, indem sich das Chromatin zu einem oder mehreren Klumpen zusammengeballt an einem Punkte, meistens in der Nähe der Kernmembran, sammelt (Fig. 10). Im Innern des Kernes, der dann fast vollkommen achromatisch geworden ist, treten ein oder mehrere Glykogentropfen auf (Fig. 11). Dieser Prozeß spielt sich in einem Ei gleichzeitig an vielen Dotterkernen ab, während andre ihr normales Aussehen und scheinbar ihre normale Funktion noch behalten haben. Schließlich werden wohl alle im Innern des Eies zurückbleibenden Dotterkerne diesen Prozeß, der sicher dem Ende der »Kern«-funktion gleichzusetzen ist, durchmachen und resorbiert werden. Ein ganz ähnlicher Fall ist in der gleichzeitig erscheinenden Arbeit von P. Ortner bei den Dotterkernen von *Caryophyllaeus* beschrieben worden, dessen Kenntnis ich der gütigen Mitteilung von Frau Ortner zu verdanken habe. In den Kernen der Dotterzellen von *Caryophyllaeus* tritt

auch, nachdem das Chromatin sich zu einem Klumpen zusammengeballt an der Kernmembran gesammelt hat, ein Glykogentropfen auf, der das ganze Kerninnere einnimmt. v. Kemnitz veröffentlichte die Befunde Goldschmidts bei *Pelomyxa*, wo dieser einen direkten Zusammenhang von Kern und glykogenigem Glanzkörper feststellen konnte, eine Beobachtung, die durch Ortner bestätigt wurde. Wegen der Deutung dieses Prozesses verweise ich auf die Arbeit von Ortner.

Aus den mitgeteilten Befunden ergibt sich: Während des ersten Teiles der Embryonalentwicklung wird ein sicher sehr großer Teil der zur Entwicklung nötigen Energie durch Verwendung des Glykogens geliefert. Von größtem Interesse ist ferner die Tatsache, daß in den bei der Blastodermbildung im Innern des Eies zurückbleibenden Dotterkernen, die bald degenerieren, Glykogen auftritt.

Bombyx mori.

Der Reichtum der Eier von *Bombyx* an Glykogen ist schon seit 1885 durch Tichomiroffs quantitative chemische Untersuchungen bekannt und seitdem mehrfach der Gegenstand quantitativ chemischer Arbeiten gewesen. Hier wäre als neuere Untersuchung die Arbeit von C. Vaney und A. Conte zu nennen, welche die Entwicklung von *Bombyx* auf die Beziehungen zwischen Glykogen und Fett studierten. Sie machten die interessante Beobachtung, daß während des ersten Teiles der Entwicklung (»constitution de la bandelette germinative et des éléments vitellines«) (etwa 5 Tage) $^2/_3$ des Gesamtverbrauches durch das Glykogen bestritten wird. Während des zweiten Teiles der Embryonalentwicklung (»la période de la vie latente« [9 Monate]), nimmt der Glykogengehalt auf Kosten des vorhandenen Fettes wieder zu, das während dieser Periode die hauptsächlichste Verbrauchsquelle ist. In dem dritten Teile der Entwicklung (la période d'édification embryonnaire, [etwa 12 Tage]), ist wieder eine starke Abnahme von Glykogen zu bemerken; diesmal nimmt der Fettgehalt etwas zu. Aus dem Umstande, daß Glykogenverbrauch nur zu den Zeiten zu konstatieren ist, wo eine Zellvermehrung stattfindet, leiten die Verfasser den Schluß ab, daß das Glykogen bei der Zellvermehrung eine große Rolle spielt. Das Glykogen wurde in der intermediären Periode auch mikroskopisch nachgewiesen, vermittelst Jodlösung, Lubarschscher Lösung und Gallustinte: Es soll das Glykogen in dieser Zeit auf den Dottersack lokalisiert werden, um später beim Aufbau des jungen Tieres verbraucht zu werden. »Le tissu vitellin doit être considéré comme une annexe embryonnaire qui ainsi que les annexes embryonnaires des Vertébrés, sert de centre d'élaboration du glycogène.« Die mir zur Untersuchung vorliegen-

den *Bombyx mori*-Eier befanden sich auf den gleichen Stadien, wie die von *Apis*; sie enthielten den Verlauf der Entwicklung von dem Moment der Ablage, d. i. Richtungskörperbildung bis zur Blastodermbildung. Die Glykogenverhältnisse von *Bombyx* entsprechen morphologisch denen der der Biene vollkommen: Keimhautblastem und Richtungsplasma enthalten die größten Ablagerungen, doch auch im Innern der Eier findet man reichliche Mengen. In dem Plasma der Furchungskerne, das an Menge dem von *Apis* nachsteht, konnte im Gegensatz zu den Verhältnissen, die bei *Apis* beobachtet wurden, Glykogen nicht nachgewiesen werden. Fig. 12 zeigt die Furchungskerne auf der Wanderung zu dem sehr glykogenreichen Keimhautblastem.

Aus der auch bei *Bombyx* zu konstatierenden Abnahme des Glykogens während des ersten Teiles der Embryonalentwicklung läßt sich in gleicher Weise wie für die Eier der Honigbiene der Schluß ziehen, daß das Glykogen sicher einen sehr großen Teil der zur Entwicklung nötigen Energie liefert.

Meloe proscarabaeus.

Die untersuchten Ovarialeier dieses Käfers waren einem Weibchen entnommen, dessen Eier ablagereif waren; der ganze Hinterleib war angefüllt mit den großen, nur durch einen dünnen Stiel noch mit der Wand des Ovars verbundenen Ovocyten[1]). Das Plasma der Eier zeigte auf Schnitten folgendes Bild: Es bestand zum größten Teil aus großen, kreisrunden, vollkommen homogenen, mit Delafieldschem Hämatoxylin stark färbbaren Eiweißkugeln, zwischen denen Fett und Glykogen in Form von Tropfen lag (Fig. 13 u. 14). In einem Teil der Eiweißkugeln findet sich meistens mehr oder weniger excentrisch gelegen ein, zwei, drei, oft auch sehr viele Glykogentropfen (Fig. 13, 15, 16, 17). Außerdem sieht man im Plasma an einigen Stellen Glykogenansammlungen, die von einer schmalen, oft kaum wahrnehmbaren Plasmahülle umgeben sind, die sich färberisch ebenso verhält wie die Eiweißkugeln (Fig. 18). Das im Innern dieser Hülle gelegene Glykogen zeigt gegenüber dem frei im Plasma liegenden oder in den Eiweißkugeln eingeschlossenen eine stark aufgelockerte fädige Struktur, so daß ein Bild entsteht, das sehr an das Spiremstadium eines Kernes erinnert (Fig. 18). Diese verschiedenen Stadien — einerseits die vollkommen homogen erscheinenden Eiweißkugeln, anderseits die Kugeln mit wenigen oder zahlreichen darinnen lagernden Glykogen-

---

[1]) Das mit Carnoyscher Flüssigkeit fixierte Material hat mir Dr. Buchner überlassen, der mich auch sonst mit Material unterstützte, wofür ich ihm zu Dank verpflichtet bin.

tröpfchen und der von einer schmalen Plasmaschicht umgebene Glykogenfaden — legen den Gedanken nahe, daß es sich um eine allmähliche Bildung von Glykogen aus den Dotterkugeln handelte: denn mit Abnahme der Dottersubstanz wächst die Größe oder Anzahl der Glykogenablagerungen. Der Vorgang wäre dann ungefähr so zu denken, daß an einer oder gleichzeitig mehreren oder vielen Stellen in den vorher vollkommen homogenen Kugeln Vacuolen auftreten, in denen das Glykogen in Tröpfchen abgelagert wird. Das schließlich entstehende fädige Aussehen des gebildeten Kohlehydrats wäre entweder durch Auflockerung oder durch Zusammenfließen der einzelnen Tröpfchen zu erklären. Die den Faden oft noch begrenzende Plasmahülle ist dann nichts anderes, als der letzte Rest der ehemaligen Kugeln. Verschwindet auch diese, so kann das Glykogen frei ins Ei verteilt werden, sodaß schließlich dieses in seiner Glykogenverteilung sich durch nichts von den für die andern Insekten beschriebenen Verhältnissen unterscheidet. Es ist wohl anzunehmen, daß nicht sämtliche Dotterkugeln diese Umwandlung erfahren, sondern daß ein Teil als solche bestehen bleiben; doch, da mir keine späteren als die beschriebenen Stadien vorlagen, kann ich hierüber nichts Genaueres geben.

Cerambyx spec.?

Der zum Vergleich mit dem Ölkäfer herangezogene zweite Vertreter der Coleopteren stammte aus der Familie der Bockkäfer.

Die untersuchten Ovarialeier waren in Dotter- und Glykogenbildung noch nicht so weit wie die vorher besprochenen von *Meloe*. Das Eiinnere, das zum großen Teil aus Dotterkugeln bestand, die denen von *Meloe* glichen, im Durchmesser vielleicht etwas kleiner erschienen, enthielt erst sehr wenig Glykogen. Eine größere Ansammlung fand sich nur in der Umgebung des Eikernes, im Richtungsplasma. Im übrigen zeigten die Eier gegenüber den bei *Apis* und *Meloe* beschriebenen Verhältnissen keine Besonderheiten.

Zusammenfassung.

Die im Laufe der Arbeit erhaltenen Untersuchungsergebnisse seien, soweit sie eine allgemeinere Betrachtung zulassen, zum Schlusse zusammengestellt.

Scheidet man die Formen, bei denen Glykogen in den Geschlechtsprodukten nicht nachgewiesen werden konnte (*Cyclops*, *Moina*, *Gammarus*), und ferner die Vertreter der Gruppe, bei der Glykogen nur intermediär auftritt (*Mesostomum*, *Thysanozoon*) aus der Betrachtung aus,

so läßt sich aus allen übrigen gemeinsam Folgendes feststellen: Während der Embryonalentwicklung tritt eine Abnahme von Glykogen ein, d. h. ein großer Teil der zur Entwicklung nötigen Energieumsetzungen geht auf Kosten des Glykogens vor sich. Dieser Verbrauch kann sich nun, wie während Reifeteilung und Befruchtung des *Ascaris*-Eies, in einer rapiden, oder, wie bei sämtlichen übrigen untersuchten Formen und auch bei *Ascaris* selbst während der späteren Entwicklung, in einer langsamen, aber ständig fortschreitenden Abnahme äußern. Diese Erscheinung erklärt sich aus den verschiedenen Entwicklungsbedingungen der Eier. Im sauerstoffreien Medium, in dem das *Ascaris*-Ei seine erste Entwicklung durchläuft, findet nur eine oberflächliche Spaltung des Glykogens statt, analog der im erwachsenen Tier beobachteten, während in sauerstoffhaltiger Umgebung eine tiefergehende, also viel haushälterischere Spaltung möglich ist.

Eine andersartige Bedeutung des Glykogens, die mit der eben besprochenen keinen Zusammenhang erkennen läßt, ergibt sich aus den bei der Untersuchung der Ovarien der Echinodermen gemachten Beobachtungen. In den normalen ablegereifen Eiern der aus dieser Klasse untersuchten Vertreter findet sich niemals Glykogen. Erst bei der Degeneration der nach dem Ablaichen zurückbleibenden Eier tritt es auf und zwar in großen Mengen, um in dem wieder zur Neubildung von Geschlechtsprodukten schreitenden Ovar zu verschwinden. Augenscheinlich wird es beim Aufbau der jungen Ovocyten verwendet. In welcher Weise dies geschieht, läßt sich morphologisch nicht feststellen.

Literaturverzeichnis.

Arnold, J. (1909). Zur Morphologie des Muskelglykogens und zur Struktur der quergestreiften Muskelfaser. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXIII.

Barfurth, D. (1885). Vergleichend histochemische Untersuchungen über das Glykogen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXV.

Best, F. (1906). Über Carminfärbung des Glykogens und der Kerne. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. XXIII.

Bizjo, J. (1866). Sur l'existence du glycogène dans les animaux invertébrés. Compt. rend. T. LXII.

—— (1866). Glicogeno negli animali invertebrati. Atti dell' Istituto Veneto di scienze. Vol. XI.

—— (1881). Über das Verhalten des Glykogens bei wirbellosen Tieren. Moleschotts Untersuchungen zur Naturlehre. Bd. XIII.

Boveri, Th. (1888). Zellenstudien. I und II. Jena.

— (1892). Über die Entstehung des Gegensatzes zwischen den Geschlechtszellen und den somatischen Zellen bei Ascaris meg. nebst Bemerkungen über die Entwicklungsgeschichte der Nematoden. Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München. Bd. VIII.

— (1899). Die Entwicklung von Ascaris meg. mit besonderer Rücksicht auf die Kernverhältnisse. Festschr. f. C. v. Kupffer. Jena.

— (1904). Protoplasmadifferenzierung als auslösender Faktor für Kernverschiedenheit. Sitzungsber. d. Phys.-Med. Ges. Würzburg. Jahrg. 1904.

— (1910a). Über die Teilung centrifugierter Eier von Ascaris meg. Festschr. f. Wilh. Roux. Arch. f. Entwicklungsmech.

— (1910b). Die Potenzen der Ascarisblastomeren bei abgeänderter Furchung. Festschr. f. Rich. Hertwig. Bd. III.

Boveri, Th. und Hogue, M. J. (1909). Über die Möglichkeit, Ascariseier zur Teilung in zwei gleichwertige Blastomeren zu veranlassen. Sitzungsber. d. phys.-med. Ges. Würzburg. Jahrg. 1909.

Boveri, Th. und Stevens, N. M. (1904). Über die Entwicklung dispermer Ascariseier. Zool. Anzeiger. Bd. XXVII.

Brault, A. et Loeper, M. (1904). Le glycogène dans le développement de certains parasites (Cestodes et Nematodes). Journal de Physiologie et de Pathologie générale. Vol. VI.

Busch, P. W. C. M. (1905—06). Sur la localisation du glycogène de quelques parasites intestinaux. Arch. int. de Phys. T. III.

Caullery, M. (1911). Structure et cycle annuel des glandes génitales des Oursins, en particulier de l'Echinocardium cordatum. Compt. Rendus de l'Association des Anatomistes. Treizième Réunion. 1911.

Caullery et Siedlecki. (1903). La résorption phagocytaire des produits génitaux inutilisés chez l'Echinocardium cordatum. Compt. R. Acad. Sc. T. CXXXVII.

Cremer, M. (1902). Physiologie des Glykogens. Ergebnisse der Physiologie. Bd. I.

Cuénot. (1891). Etude morphologique sur les Echinodermes. Archives de Biologie. T. XI.

Dickel, O. (1904). Entwicklungsgeschichtliche Studien am Bienenei. Zeitschr. f. wiss. Zoologie. Bd. LXXVII.

v. Erlanger, R. (1897). Beiträge zur Struktur des Protoplasmas, der karyokinetischen Spindel und des Centrosoms. I. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLIX.

v. Fürth. (1903). Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere. Jena.

Gelei, J. (1913). Über die Ovogenese von Dendrocoelum lacteum. Arch. f. Zellforsch. Bd. XI.

v. Kemnitz, G. (1912). Die Morphologie des Stoffwechsels bei Ascaris lumbricoides. Arch. f. Zellforsch. Bd. VII.

Marcus, H. (1906). Ei und Samenreife bei Ascaris canis. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXVIII.

Mayer, P. (1909). Zur Färbung des Glykogens. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. XXIV.

Nachtsheim, H. (1913). Cytologische Studien über die Geschlechtsbestimmung bei der Honigbiene (Apis mellifica). Arch. f. Zellforsch. Bd. XI.

Ortner, P. (1913). Zur Morphologie des Glykogens bei Trematoden und Cestoden. Arch. f. Zellforsch. Bd. XI.

Picard. (1874). Observations sur la Glycogénie chez un certain nombre d'animaux marins. Gaz. méd.

Schneider, A. (1883). Das Ei und seine Befruchtung.

Straus, J. (1911). Die chemische Zusammensetzung der Arbeitsbienen und Drohnen während ihrer verschiedenen Entwicklungsstadien. Zeitschr. f. Biologie. Bd. LVI.

Tichomiroff. (1885). Chemische Studien über die Entwicklung der Insekteneier Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. IX.

Vanny et Conte. (1910). Recherches sur le développement de l'œuf de Ver à Soie univoltin. Compt. rend. Acad. Sciences. T. CL.

Warburg, O. (1908). Beobachtungen über die Oxydationsprozesse im Seeigelei. Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. LVIII.

Weinland, E. (1901). Über Kohlehydratzersetzung ohne Sauerstoffaufnahme bei Ascaris, einen tierischen Gärungsprozeß. Zeitschr. f. Biologie. Jubelband zu Ehren v. C. Voit. Bd. XLII. (24).

—— (1906). Über den anaeroben (anoxybiotischen) Abschnitt der intermediären chemischen Prozesse in der Puppe von Calliphora. Zeitschr. f. Biologie. Bd. XLVIII. (30).

Tafelerklärung.

Sämtliche Figuren sind mit einem Abbeschen Zeichenapparat in Objekttischhöhe gezeichnet. Die Präparate waren alle mit Delafieldschem Hämatoxylin-Bestschem Carmin gefärbt.

Tafel XVII.

Fig. 1. *Ascaris megalocephala*: Zweizellenstadium. Ausbildung der Ruhekerne. Obj. Zeiss' 2 mm. Apochromat. Ocul. 3.

Fig. 2. *Echinus microtuberculatus*: Schnitt durch ein Ovar im Zustande vollkommener Erschöpfung. Große Mengen Glykogen. Viele Eiweißkugeln. Obj. 5 (Leitz). Ocul. 1.

Fig. 3. *Echinus microtuberculatus*: Schnitt durch ein Ovar, in dem die Neubildung von jungen Ovocyten wieder begonnen hat. Abnahme des Glykogens und der Eiweißkugeln. Obj. 5 (Leitz). Ocul. 1.

Fig. 4. *Echinus microtuberculatus*: Schnitt durch ein Ovar kurz nach der Ablage der Eier. Ein Phagocytenhaufen auf der Wanderung zu einem zurückgebliebenen Ei, das der Degeneration anheimfällt. Links und rechts von der Hauptansammlung vereinzelte Phagocyten. Obj. 2 mm. Ocul. 1.

Fig. 5. *Echinus microtuberculatus*: Ei aus dem gleichen Ovar wie die vorhergehende Figur. Eingedrungene Phagocyten, das Plasma ballt sich zusammen, der Kern nimmt an Größe zu, ist fast nicht mehr färbbar. Obj. 2 mm. Ocul. 3.

Fig. 6. *Astacus fluviatilis*: Junge Eizelle mit zwei durch eine ungefärbte, dem Keimbläschen konzentrische Zone getrennten Plasmaschichten. Obj. 3 (Leitz). Ocul. 3.

Fig. 7. *Astacus fluviatilis*: Ältere Eizelle aus demselben Ovar wie die vorhergehende Figur. In der Schicht um den Kern tritt Glykogen auf. Der Dotter hat ein grobscholliges Aussehen angenommen. Obj. 3 (Leitz). Ocul. 1.

Fig. 8. *Apis mellifica*: Schnitt durch ein Ei auf dem Stadium der Richtungskörperbildung. Starke Glykogenablagerung im Richtungsplasma und Keimhautblastem. Obj. 2 mm. Comp.-Ocul. 6.

Fig. 9. *Apis mellifica*: Furchungskerne im Innern des Eies. Im Plasma der Furchungskerne (deren Teilungsfigur sich im Innern des Kernes anlegt), Glykogen, das im Lauf der späteren Teilungen immer mehr abnimmt. Obj. 2 mm. Comp.-Ocul. 8.

Fig. 10. *Apis mellifica*: Im Innern des Eies zurückgebliebener Dotterkern. Beginn der Degeneration: Das Chromatin ballt sich zusammen. Obj. 2 mm. Comp.-Ocul. 18.

Fig. 11. *Apis mellifica*: Dotterkern aus demselben Ei wie die vorhergehende Figur. Im Innern des völlig achromatischen Kernes tritt Glykogen auf. Obj. 2 mm. Comp.-Ocul. 18.

Fig. 12. *Bombyx mori*: Furchungskerne im Begriff an die Peripherie zu rücken, die von dem glykogenreichen Keimhautblastem eingenommen wird. Obj. 6 (Leitz). Ocul. 1.

Fig. 13. *Meloe proscarabaeus*: Schnitt durch ein Ei mit vielen Eiweißkugeln, die teils vollkommen homogen sind, teils im Innern Glykogentropfen enthalten, im Plasma ebenfalls frei Glykogen, außerdem zwei »Glykogenfäden« von kugeliger Form, deren Begrenzung als Rest der umgewandelten Dotterkugeln aufzufassen ist. Ocul. 3. Obj. 7 (Leitz).

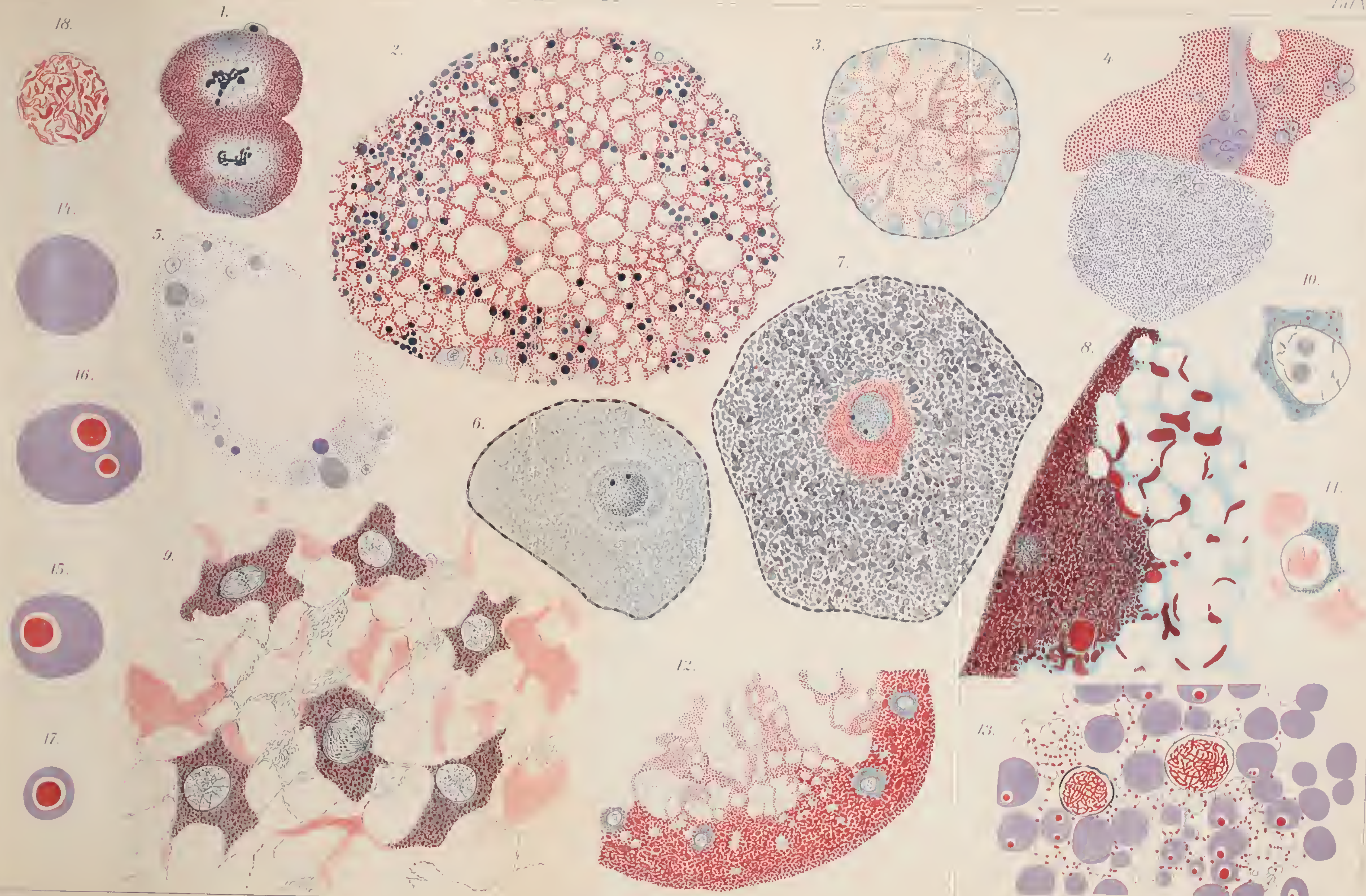
Fig. 14. *Meloe proscarabaeus*: Dotterkugel, vollkommen homogen bei stärkerer Vergrößerung. Obj. 2 mm. Comp.-Ocul. 6.

Fig. 15. *Meloe proscarabaeus*: Dotterkugel mit einer Glykogenkugel im Innern. Vergr. s. Fig. 14.

Fig. 16. *Meloe proscarabaeus*: Dotterkugel mit zwei Glykogenkugeln im Innern. Vergr. s. Fig. 14.

Fig. 17. *Meloe proscarabaeus*: Dotterkugel, auf etwas späterem Stadium. Die im Innern gelegene Glykogenkugel übertrifft an Volumen die übriggebliebene Dottersubstanz. Vergr. s. Fig. 14.

Fig. 18. *Meloe proscarabaeus*: »Glykogenfaden«, dessen nur sehr schwach sichtbare Begrenzung durch Reste der ehemaligen Dotterkugeln gebildet wird. Vergr. s. Fig. 14.


18.
1.
2.
3.
4.
14.
5.
7.
10.
16.
6.
8.
11.
9.
15.
12.
13.
17.

Zur Morphologie des Glykogens bei Trematoden und Cestoden.

Von

Pauline Ortner-Schönbach.

(Aus dem Zoologischen Institut München.)

Mit Tafel XVIII—XIX.

Inhalt.

I. Einleitung.

In seiner Arbeit über die Morphologie des Stoffwechsels bei *Ascaris lumbricoides* hat v. Kemnitz (1912) das Vorkommen des Glykogens in den Geweben dieses Nematoden einer gründlichen Analyse unterworfen. Das Glykogen bei *Ascaris* war vor dieser Arbeit auf quantitativ-chemischem Wege von Weinland (1901a, b, 1902) und mikrochemisch von Brault und Loeper (1904) und Busch (1905) oberflächlich nachgewiesen worden.

Weinland betonte nun in einer seiner ersten Arbeiten (1901a) über diesen Gegenstand, daß das Glykogen überhaupt bei parasitischen Würmern sehr verbreitet zu sein scheine, und er konnte bei dem Trematoden *Fasciola hepatica* (1901b) dessen Vorkommen, das schon Claude Bernard (s. Weinland 1910) und Saake (1893) konstatiert hatten, bestätigen und den ebenfalls schon Cl. Bernard (s. Weinland 1910) bekannten Glykogengehalt des Cestoden *Taenia expansa* (1901a) quantitativ nachweisen. Somit schien es von großem Interesse, zu untersuchen, wie sich das Glykogen in den Geweben der Trematoden und Cestoden, dieser so ganz dem Parasitismus angepaßten Gruppen, verhalte. Zu erwähnen wäre, daß v. Kemnitz (1912) zum Vergleich auch den Glykogengehalt zweier Trematoden *Fasciola hepatica* und *Polystomum integerrimum* kurz geprüft und Glykogen im Parenchym, in der Muskulatur und in den Dotterstöcken konstatiert hat. Außerdem behandeln Brault und Loeper (1904) und Busch (1905) in den oben erwähnten Arbeiten auch das Glykogen in den Geweben von Bandwürmern, doch erstens verwenden Brault und Loeper zum Nachweis nur die Jodreaktion (da das Bestsche Karmin damals noch nicht bekannt war), und zweitens begnügen sie sich, ebenso wie Busch, mit ganz allgemeinen Angaben.

So sollte es also Zweck dieser Arbeit sein, ein genaueres Bild der Glykogenlagerung bei Trematoden und Cestoden zu gewinnen, um daraus eventuell Rückschlüsse auf den Verlauf des Kohlehydratstoffwechsels dieser Parasiten ziehen zu können.

Allen, die meiner Arbeit Interesse und Hilfe zuteil werden ließen, möchte ich hier meinen Dank abstatten. Vor allem schulde ich denselben meinem hochverehrten Lehrer Herrn Geheimrat Hertwig und ganz besonders auch Herrn Professor Goldschmidt, der die Anregung zu dieser Untersuchung gegeben hat.

II. Material und Methoden.

Da Materialbeschaffung und mikrotechnische Methoden bei beiden Gruppen ziemlich die gleichen waren, so mögen sie gemeinsam für beide hier erörtert werden. Von Trematoden wurden folgende Formen untersucht: *Fasciola hepatica* und *Dicrocoelium lanceatum* aus der Schafleber, *Distomum cylindraceum* aus der Lunge von *Rana temporaria*, *Distomum cygnoides* und *Polystomum integerrimum* aus der Harnblase von *Rana esculenta* und *Lecithochirium rufoviride* aus dem Magen von *Conger conger*. Von Cestoden dienten als Material: *Anoplocephala plicata*, *Anoplocephala perfoliata* und *Anoplocephala mamillana* aus dem Pferdedarm, *Calliobothrium coronatum* aus dem Spiraldarm von *Scyllium stellare* und *Caryophyllaeus mutabilis* aus dem Darm von *Cyprinus carpio*. Sämtliche Parasiten wurden lebend den betreffenden Eingeweideteilen entnommen und sofort fixiert. Als Fixationsmittel wurde ausschließlich Carnoysche Flüssigkeit verwendet, die, wie schon v. Kemnitz angibt, sehr gute Bilder liefert. Die Einbettung in Paraffin erwies sich auch als durchaus einwandfrei. Da beim Aufkleben der Schnitte immer noch am ehesten Gefahr vorhanden ist, daß Glykogen in Lösung geht, da auch beim Aufkleben mit Alkohol während des Erwärmens die Konzentration nicht kontrolliert werden kann, so habe ich es vorgezogen, trocken mit Eiweißglyzerin aufzukleben. Die Schnitte wurden auf dem ganz dünn mit Eiweißglyzerin bestrichenen Objektträger mit einem breiten Pinsel aufgedrückt, dadurch sind sie ganz gestreckt und bei einiger Vorsicht wird das Gewebe nicht geschädigt. Der Objektträger muß dann noch leicht erwärmt werden, damit das Eiweiß koaguliert und die Schnitte festkleben. Die Methode hat natürlich den einen Nachteil, daß sie mehr Zeit erfordert als die Streckmethode in warmem Wasser, da bei größeren Objekten die Schnitte einzeln aufgeklebt werden müssen. Es ist dies aber hiebei kein Zeitverlust, weil sowieso meistens zwei Objektträger abwechselnd mit je einem Schnitt

einer Serie belegt werden mußten, von denen der eine zur Kontrolle mit der Speichel- oder Jodprobe behandelt wurde. Zur färberischen Darstellung des Glykogens wurde vor allem das Bestsche Karmin (1906) verwandt und später auch zum Vergleich die von Mayer (1909) beschriebene Gallustinte, die nach dem von Mayer angegebenen Rezepte selbst hergestellt gute Bilder liefert, wogegen v. Kemnitz das fertig gekaufte Pulver nicht verwenden konnte. Ich fand nur auch wie Mayer selbst angibt, daß zum Auffinden geringer Glykogenmengen, die in feinen Mengen graue Farbe der Gallustinte nicht geeignet ist und hiefür doch immer noch das auch in kleinen Körnchen leuchtend rot wirkende Best-Karmin vorzuziehen ist. — Zur Kernfärbung gebrauchte ich wie v. Kemnitz konzentriertes Delafield-Hämatoxylin 1—1$^1/_2$ Min.; darauf Auswaschen mit 50% Alkohol. Bei diesem Verfahren werden aber die Kerne meist nicht so distinkt blau, daß sie einen ganz scharfen Kontrast zur Glykogenfärbung abgeben würden. Ich versuchte dann Bleu de Lyon, das von Zieglwallner (1911) angegeben und von Erhardt (1912) sehr gerühmt wird, doch ist es eine so rohe Farbe, daß ich ihr immer noch Delafields Hämatoxylin vorzog. Die besten Erfahrungen machte ich schließlich mit dem von Arnold (1909) angegebenen Verfahren, das auch v. Kemnitz zitiert, wobei die Auswaschung der Schnitte mit Brunnenwasser durch ein Überziehen mit Celloidin ermöglicht wird; da die Äther-Celloidinreihe sehr schnell durchgangen werden kann, ist die Methode auch nicht zeitraubend. Als Gegenfarbe zur Gallustinte wurde, wie Mayer auch vorschlägt, Parakarmin verwandt, das meiner Beobachtung nach ziemlich lange einwirken muß, um einen genügenden Kontrast zu geben, denn oft schien es in der Tinte wieder auszublassen. — Zur Feststellung feinerer histologischer Details und zum Vergleich wurde auch Eisenhämatoxylin-Eosinfärbung angewendet.

Über die Art, wie die Versuche angestellt wurden, die Tiere außerhalb des Wirtes hungern zu lassen, soll in dem Abschnitt über Hungerversuche berichtet werden.

III. Die Morphologie des Glykogens bei einigen Trematoden und Cestoden.

A. Trematoden.

Die untersuchten Trematodenformen zeigten in bestimmten Organen ein ziemlich gleiches Verhalten gegenüber dem Glykogen; nur in bezug auf den Glykogengehalt der weiblichen Geschlechtsdrüsen und demzufolge auch für die Versorgung des Embryo mit Reservekohlehydrat ließen

sich verschiedene Typen aufstellen. Es schien daher das Geeignetste zu sein, die Morphologie des Glykogens nach Organsystemen zu besprechen.

1. Parenchym.

Über die Beschaffenheit des Parenchyms bei den Trematoden und Cestoden gehen die Ansichten der Forscher weit auseinander.

Besonders standen sich zwei Ansichten gegenüber. Die eine Gruppe der Untersucher, wie Taschenberg (1878) und andere, sprach von Parenchym als von einem aus verästelten Zellen gebildeten Gerüstwerk, in dessen Lücken anders gestaltete, mehr oder weniger veränderte Zellen eingelagert sind.

Leuckart war in der 2. Auflage seines Parasitenwerkes (1886) zuerst auch dieser Ansicht, später (1889) aber kam er immer mehr auf die andere, von ihm selbst schon in der 1. Auflage (1863) geäußerte Auffassung zurück, daß es sich nämlich nur um eine Art von Zellen handle, die durch eine Intercellularsubstanz unter einander verbunden sind. Looss kam zu der Ansicht, daß sich das Trematodenparenchym aus gleichartigen Zellen zusammensetzt, von denen im ausgebildeten Zustande nur die Membranen übriggeblieben sind, die sich verkitten und manchmal eine körnige Intercellularsubstanz haben können. Die Lücken dieses aus den Zellmembranen gebildeten Maschengerüstes sind während des Lebens mit einer klaren, farblosen Flüssigkeit erfüllt, dem wässerig entarteten Protoplasma. Beim Konservieren wird der Inhalt körnig niedergeschlagen, manchmal ist noch der meist central gelagerte Kern sichtbar mit einem Hofe feinkörnigen Plasmas. Von der Existenz verästelter Zellen konnte sich Looss nirgends überzeugen. Daß andere Autoren die Kerne solcher Zellen gesehen haben wollen, erklärt er als Täuschung durch Querschnitte von Parenchymmuskeln und Exkretionskanälchen. Blochmann (1896) spricht in seiner Abhandlung über die Epithelfrage auch kurz vom Parenchym und behauptet die Existenz großer, verästelter Zellen, welche die Muskelfasern auf lange Strecken begleiten und schließlich ein alle Organe umspinnendes Netzwerk bilden. Den Abbildungen nach zu urteilen, können diese vermeintlichen Parenchymzellen nur Myoblasten sein. Die kleinen Kerne innerhalb der Maschenwände scheint er gar nicht gesehen zu haben. Hein (1904) gibt eine kurze Beschreibung des Parenchyms als eines alle Organe umhüllenden Maschenwerkes, in dessen Balken relativ sparsam ovale Kerne verstreut sind; über den cellulären Bau des Gewebes macht er keine Angaben. — Mir stellte sich das Parenchym der Trematoden auch als ein dichtes Netz dar, das sich zwischen allen Organen ausbreitet und überall die Muskelfasern und Subcuticularzellen umspinnend in die Saug-

näpfe und den Pharynx bis zur Basalmembran vordringt. In den Maschenräumen findet sich stets Plasma in feinen Granula niedergeschlagen und an den das Maschenwerk bildenden Wänden liegen ab und zu kleine, ovale Kerne. Die Größe und Form der Maschen kann bei den verschiedenen Arten und auch je nach der Lage innerhalb eines Tieres sehr variabel sein. — Wenden wir uns nun zur Betrachtung der Glykogenverhältnisse innerhalb dieses Gewebes, so bietet sich uns gleich bei oberflächlicher Untersuchung eines mit Best-Karmin gefärbten Schnittes ein auffallendes Bild dar. Alle Räume des Parenchymnetzes sind von roten Körnchen und Schollen erfüllt, die sich durch alle Kontrollproben als Glykogen erweisen. In der Art nun, wie das Glykogen in den Lücken des Parenchyms gelagert ist, zeigen sich bei den untersuchten Formen Unterschiede. Die Parenchymmaschen sind im allgemeinen bei Trematoden sehr groß im Gegensatz zu dem kleinmaschigen Cestodenparenchym, was Leuckart (1886) schon konstatiert hat; doch gibt es auch bei den verschiedenen Arten wieder Größenunterschiede. Bei *Fasciola hepatica* (Fig. 1) und *Dicrocoelium lanceatum* ist das Parenchym dort, wo es zwischen den Teilen des Geschlechtsapparates oft in schmalen, langen Maschen durchzieht, ganz gleichmäßig von Glykogenkörnchen erfüllt. Peripher laufen die Maschen in flachen Bogen parallel mit der Cuticula und in ihnen findet sich das Glykogen außer in Körnchen noch in halbmondförmigen Schollen an der Innenseite niedergeschlagen. *Lecithochirium rufoviride* besitzt trotz der Kleinheit des Tieres große Maschen, in denen sich das Glykogen in kleinen Körnern und dichteren Klumpen ablagert. Bei *Polystomum integerrimum* und bei *Distomum cygnoides* tritt das Parenchym viel mehr zurück, da bei ersterem die Darmschlingen und Dotterstockfollikel den ganzen Raum ausfüllen, bei letzterem dagegen (in geschlechtsreifem Zustande) der größte Teil des Tieres aus von Eiern erfüllten Uterusschlingen besteht. Wo sich feine Parenchymmaschen zwischen die Organe einschieben, sind sie von Glykogenkörnchen erfüllt. *Distomum cylindraceum* hat ein auffallend kleinmaschiges Parenchym mit dünnen Zellwänden, was schon Looss (1893) beobachtet hat. Das Glykogen hat körnige Struktur oder liegt in homogenen Schollen in den Gewebsmaschen. — Man muß sich natürlich immer vor Augen halten, daß die Art, wie sich uns das Glykogen im Präparat darstellt, meist Fixierungsprodukt ist. v. Kemnitz, der diese Frage auch erörtert, ist der Ansicht, daß die Beschaffenheit des Glykogens im lebenden Tiere »flüssig bis zähflüssig« sein dürfte. Er stellt auch Vermutungen darüber an, welche Konsistenz das Glykogen in bestimmten Organen haben könnte, und zwar ist, wo er Leichtflüssigkeit annimmt, das fixierte Glykogen diffus verteilt, wo er es zähflüssig glaubt,

zeigt sich homogene, schollige Fixierung. Es ist ja auch ganz gut vorstellbar, daß eine zähflüssige Masse sich eher einheitlich fixiert, als eine leichtflüssige. So könnte vielleicht auch im Parenchym dieser Unterschied der Konsistenz als Grund für die körnige und schollige Fixierung des Glykogens in Betracht gezogen werden.

Versuchen wir nun von diesen Befunden aus zur Frage nach dem Wesen des Parenchyms Stellung zu nehmen, so muß der Anschauung beigestimmt werden, daß es sich im Grundgewebe der Trematoden um große Zellen handelt, deren Inhalt sich allmählich verändert hat. Das merkwürdige Aussehen der Zellen beruht sicherlich auf dem großen Glykogenreichtum dieses Gewebes. So lassen sich die Angaben von LEUCKART und LOOSS über Ansammlung einer hellen Flüssigkeit im Plasma oder andere Beschreibungen einer hyalinen Grundsubstanz oder eines zähflüssigen Plasmas (SOMMER 1880) am besten dadurch erklären, daß, wie wir sahen, Glykogen der Hauptinhalt der Parenchymzellen ist. — Das Plasma der Zellen findet sich als Granula niedergeschlagen und hie und da sind noch erhaltene Kerne gegen die Membran gedrückt zu sehen. So stimmt diese Anschauung ziemlich mit der von LOOSS gegebenen Darstellung des Parenchyms überein, nur die »meist zentrale Lage des Kernes« konnte nicht bestätigt werden. Wie eben erwähnt, tritt in den Parenchymzellen das Glykogen neben Plasmagranulationen auf. Dasselbe fand v. KEMNITZ in den Markbeuteln der *Ascaris*-Muskeln. Ich möchte hier die Frage der »Trägersubstanz« des Glykogens berühren. Seit EHRLICH (1883) diesen Begriff geprägt hat, sind auch viele andere Autoren wie BARFURTH (1885) und GIERKE (1905) überzeugt, daß das Glykogen in der Zelle an eine specifische »Trägersubstanz« gebunden sei. Für Näheres verweise ich auf die Einwände, die v. KEMNITZ gegen diese Theorie erhoben hat; ich will hier nur betonen, daß ich weder in den Granula der Parenchymzellen noch in den Glykogenverhältnissen andrer Organe bei Trematoden und Cestoden einen Beleg für obige Annahme finden konnte und mich durchaus der Ansicht von CREMER (1902) und v. KEMNITZ anschließe, welche die Lehre von der »Trägersubstanz« als nicht bewiesen und hypothetisch bezeichnen.

2. Muskulatur.

Bei den Trematoden unterscheidet man eine Ring-, Längs- und Dorsoventralmuskulatur im Körper und Ring- und Radiärmuskeln im Pharynx. Die Muskeln bestehen aus mehr oder weniger langen Faserbündeln. Von den meisten früheren Autoren wurde ihnen ganz oder teilweise der Besitz von Myoblasten abgesprochen. BETTENDORF (1897) hat nachgewiesen,

daß in sämtlichen Muskelgebieten kernhaltige Zellen vorhanden sind, die den Fasern anliegen oder mit einer, oft auch mit mehreren Fasern durch plasmatische Ausläufer in Verbindung stehen. Über die Struktur der Faser gibt er nichts Näheres an. Ich konnte nun deutlich sehen, daß auf Querschnitten die Muskelfaser (Fig. 1) die Form eines Ringes hat, sodaß an ihr jedenfalls auch eine kontraktile Rinde und eine Markschicht zu unterscheiden ist, die wohl mit den plasmatischen Fortsätzen der Myoblasten in Verbindung stehen dürfte. Damit wäre auch für Trematoden ein ganz nematoider Bau der Muskulatur gegeben, wie er von Gelei (1909—1912) für Turbellarien und von Zernecke (1896) für Cestoden beschrieben worden ist. — Bei Betrachtung der Körpermuskulatur fällt sofort auf, daß das Glykogen den Muskelfasern in feiner Lage adhäriert, und es läßt sich bald deutlich erkennen, daß es innerhalb feiner Parenchymmaschen liegt, welche alle Fasern umhüllen. Schon Blochmann (1896), Bettendorf (1897) und Hein (1904) haben darauf hingewiesen, daß die Muskelfasern in Parenchymscheiden eingeschlossen liegen. Ebenso haben die muskulösen Saugnäpfe und der ebenso beschaffene Pharynx ihren Glykogenreichtum nicht der Muskulatur, sondern dem Parenchym zu verdanken, das in kleinen Maschen überall den Raum zwischen den Muskelfasern ausfüllt. Darum ist es nicht richtig, wenn v. Kemnitz angibt, reichlich Glykogen in der Muskulatur der Saugnäpfe gefunden zu haben.

Die Muskelfibrillen sind also frei von Glykogen. Dies sah v. Kemnitz in der Muskulatur von *Ascaris*, wo er Glykogen nur im Markbeutel und dem Sarcoplasma der kontraktilen Rinde beobachtete, und ebenso konnte Ehrlich (1883) für den Wirbeltiermuskel hervorheben, daß das Glykogen immer nur in der interfibrillären Kittsubstanz auftrete, was Arnold (1909) bestätigte. Barfurth (1885) allein will einmal Glykogen in Fibrillen gesehen haben. — Über das Verhalten des Glykogens in den Myoblasten der Trematoden ist es nicht ganz leicht, Klarheit zu gewinnen, weil sie im Parenchym eingebettet liegen, das selbst so reich an Reservekohlehydrat ist. In einigen Fällen (Fig. 1) gelang es mir aber doch, deutlich nachzuweisen, daß die Muskelzellen Glykogen diffus im Plasma, wenn auch nicht in großen Mengen enthalten. In der Markscheide der Fasern konnte ich trotz eifrigen Suchens kein Glykogen entdecken. Falls es hier vorkommt, muß es jedenfalls selten sein. Gelei beschreibt sein Vorkommen in den feinen Markkanälen der Turbellarienmuskelfasern. Nach dem Gesagten dürfte der Schluß wohl berechtigt sein, daß die Muskelfasern der Trematoden ihren Bedarf an Kohlehydrat aus den sie umschließenden Parenchymscheiden beziehen.

3. Cuticula und Subcuticula.

Durch die Arbeiten von Blochmann und Hein ist der Ansicht Nachdruck verliehen worden, daß bei Trematoden die Subcuticula ein in die Tiefe gerücktes Epithel sei, welches die Cuticula erzeugt hat. — Ich konnte bei allen untersuchten Trematoden mit Ausnahme von *Polystomum* weder in den ganz im Parenchym eingebetteten Subcuticularzellen (Fig. 1) noch in der Cuticula Glykogen nachweisen. Bei *Polystomum* dagegen zeigte auf Best-Präparaten die äußerste Körperschichte merkwürdigerweise eine deutliche Glykogenfärbung. Ich hatte nicht genug Material, um den histologischen Bau dieser Schichte zu untersuchen.

Stieda (1870) gibt an, daß bei *Polystomum* die Oberfläche des Körpers abweichend von andern Saugwürmern mit einer einfachen Schicht kleiner, rundlicher Zellen, welche deutliche Kerne besitzen, bedeckt ist. Diese Angabe hat jedoch keine weitere Bestätigung gefunden. Ich kann deshalb nur andeuten, daß, falls es sich bei *Polystomum* um ein Körperepithel handelt, auf eine nähere Verwandtschaft dieses Trematoden mit den Turbellarien zu schließen wäre, deren einschichtiges Körperepithel auch reichlich Glykogen speichert (Gelei 1909).

4. Darm.

Der Darm beginnt hinter dem muskulösen Pharynx mit einem kurzen, unpaaren Stück, dem Ösophagus, der sich bald in zwei Äste teilt. Diese können in geradem Verlaufe ungeteilt den Körper durchziehen (einfacher Gabeldarm bei *Dicrocoelium*, *Distomum cylindraceum* und *cygnoides* und bei *Lecithochirium*) oder sie können sich weiter verästeln, wie bei *Fasciola* und *Polystomum*, bei welch letzterem die Seitenzweige wiederum Anastomosen bilden.

Der Ösophagus ist wie der Pharynx noch mit einer Cuticula ausgekleidet, der aber die Subcuticularzellen dicht anliegen; nach der Gabelung treten die Epithelzellen direkt ans Lumen heran und besitzen hier einen dichten Stäbchensaum (Hein 1904). Ich fand, daß die Darmepithelzellen immer glykogenfrei waren. Die Vermutung, daß die stärkere Verästelung des Darmes vielleicht einen Einfluß auf die Verteilung des Glykogens im Körper haben könnte, hat sich nicht bestätigt, da, wie schon erwähnt, das Parenchym überall gleichmäßig von Glykogen erfüllt ist. Es wäre höchstens zu bemerken, daß die zwei Arten mit stark verästeltem Darm Dotterstöcke besitzen, deren Zellen sehr viel Glykogen enthalten, wogegen die andern Arten im Dotterstock nur minimal oder gar kein Glykogen speichern. Es erscheint mir aber nicht sehr wahrscheinlich, daß

hier tatsächlich ein Zusammenhang besteht, da die Dotterstöcke hier wie dort mitten im glykogenhaltigen Parenchym liegen. —

Seit der von STIEDA (1867) und SOMMER (1880) gegebenen Beschreibung des Darmepithels von *Fasciola hepatica* wird immer wieder (s. BIEDERMANN 1910, JORDAN 1913) von der intracellulären Verdauung bei Trematoden gesprochen. Es hat sich leider bei der Glykogenuntersuchung nichts zu dieser Frage beitragen lassen. Ich fand auch die von SOMMER beschriebene wechselnde Höhe und Form der Darmepithelzellen, jedoch zeigte sich niemals deutlich eine Umschließung der Nahrung durch Fortsätze der Epithelzellen. Der Glykogenmangel der Trematodendarmzellen im Gegensatz zu den entsprechenden Zellen bei *Ascaris*, die viel Glykogen speichern, kann auch nicht für die intracelluläre Verdauung sprechen, da die Turbellarien bei nachgewiesen intracellulärer Verdauung auch Glykogen in den Darmzellen ablagern können (GELEI 1909).

5. Drüsen.

Bei *Polystomum integerrimum* und *Distomum cylindraceum* existieren einzellige Drüsen, die hinter dem Pharynx in den Ösophagus münden. *Dicrocoelium lanceatum* besitzt sogenannte Kopfdrüsen, die vor dem Mundsaugnapf liegen (BUSCHKIEL 1908). Alle diese Drüsen sind wie die andern Organe im Parenchym eingebettet, heben sich aber klar auf BEST-Präparaten daraus hervor, denn sie enthalten Glykogen nur in Form ganz feiner, stäubchenartiger Körner.

6. Exkretionssystem.

Zur Orientierung über den näheren Bau dieses Organsystems verweise ich auf die Arbeit von BUGGE (1902). Die Gefäßwände enthalten kein färberisch nachweisbares Kohlehydrat und in der Umgebung der Gefäße zeigt sich keine spezielle Lagerung des Glykogens im Parenchym.

7. Nervensystem.

Eine genauere Untersuchung darüber enthält die Arbeit von BETTENDORF (1897). Wo es bei den hier angewandten Methoden klar sichtbar wurde, so besonders in den oberen Ganglien zu beiden Seiten des Pharynx, ließ sich in den Nervenfasern sowie in den Ganglienzellen kein Glykogen nachweisen. v. KEMNITZ fand das Nervensystem von *Ascaris* auch glykogenfrei. GELEI beschreibt geringe Glykogenmengen in den Nervenzellen von *Dendrocoelum lacteum*.

8. Geschlechtsapparat.

Die Trematoden besitzen fast stets hermaphrodite Geschlechtsorgane. Allen hier untersuchten Arten kommen folgende weibliche Organe zu: ein unpaares Ovar und ein meist stark verzweigter paariger Dotterstock; Ovidukt und vereinigter Dottergang treffen sich in der Gegend der Schalendrüse, wo die zusammengesetzten Eier gebildet werden. Eine Eizelle und mehrere Dotterzellen werden von einer Schale umgeben, deren Material aus den Dotterzellen stammt. Schließlich gelangen die Eier in den meist stark gewundenen Uterus, der am Vorderende vor dem Bauchsaugnapfe mündet. Außerdem haben alle Formen mit Ausnahme von *Lecithochirium* und *Polystomum* einen LAURERschen Kanal, der dorsal nach außen mündet. Dieser Gang wird jetzt von vielen Autoren als funktionslos gewordene Vagina angesehen, da die Begattung durch den Uterus erfolgt. Bei *Dicrocoelium* und *Lecithochirium* findet sich auch ein Receptaculum seminis als Anhang des Ovidukts. *Polystomum* besitzt eine doppelte Vagina, die von den Dottergängen ausgehend jederseits an den Seitenwänden mündet. — Die männlichen Organe bestehen aus zwei bis mehr Hoden, deren Vasa efferentia sich zu ein oder zwei Vasa deferentia sammeln, welche in den muskulösen Cirrhusbeutel eintreten. Hier erweitert sich das Vas deferens zu einer Vesicula seminalis, auf sie folgt eine Pars prostatica mit Drüsenanhängen und schließlich der Cirrhus. (Siehe BRAUN, BRONNS Kl. u. O.)

a) Ovarium.

Über feinere cytologische Verhältnisse im Ovar von *Fasciola hepatica* geben Aufschluß die Arbeiten von SCHUBMANN (1905), HENNEGUY (1907) und SCHELLENBERG (1911); für *Dicrocoelium lanceatum* wäre die Untersuchung von GOLDSCHMIDT (1908) anzuführen. — Die Ovarien liegen im Parenchym nur durch eine einfache Tunica propria von ihm getrennt. An der Peripherie des Ovars finden sich Oogonien und Oocyten, welch letztere in verschiedenen Wachstumstadien auch das ganze Ovar erfüllen. Die Eizelle gelangt aus dem Ovar durch Ovidukt und Schalendrüse in den Uterus, wo sie erst nach der Befruchtung innerhalb der Schale die Reifeteilungen durchmacht. — Bei Untersuchung der Glykogenverhältnisse zeigte sich, daß *Distomum cylindraceum* und *cygnoides* und *Dicrocoelium lanceatum* weder in den Oogonien noch in den Oocyten Glykogen besitzen. Bei *Fasciola* dagegen und *Polystomum* liegen die Verhältnisse anders. In den Oogonien und in jungen Oocyten ist auch kein Glykogen zu sehen; wenn aber die Oocyten das Ende der Wachstums-

phase erreicht haben, läßt sich in ihnen deutlich diffus verteiltes Glykogen nachweisen (Fig. 2, 3). Es liegt meistens auf eine Seite des Eies gedrängt, was jedenfalls auf Fixation zurückzuführen ist, denn bei *Polystomum*, wo das Ovar fast die ganze Breite eines Längsschnittes einnimmt, ist klar zu erkennen, daß das Glykogen durch die von oben und unten eingedrungene Fixierungsflüssigkeit an die der Mitte zugewandte Seite jeder Oocyte gedrängt wurde. — Erwähnen möchte ich noch, daß mir in ausgewachsenen Oocyten von *Fasciola hepatica* mit Delafield stark färbbare, fibrillenartige Stränge aufgefallen sind. Henneguy beschreibt ähnliche Bildungen. Sowohl Goldschmidt als Schellenberg betonen, daß die Wachstumsphase der Oocyten eine sehr kurze sei; dem entspricht auch die Beobachtung, daß bei *Dicrocoelium* kein Glykogen in den Oocyten gestapelt wird, bei *Fasciola* auch nur eine verhältnismäßig geringe Menge, die, wie wir sehen werden, in der Zeit bis zu den Reifeteilungen verbraucht wird. — Über die Art, wie sich die Eizellen im Ovar ernähren können, stellen Schubmann und Schellenberg verschiedene Vermutungen an. Schubmann will degenerierende Eizellen beobachtet haben, die von den Oocyten aufgenommen und als Nahrung verwendet werden. Diese Angaben kann ich ebenso wie Schellenberg und Henneguy nicht bestätigen. Schellenberg beschreibt lichtbrechende Körnchen, die sich in der Umgebung des Ovars ansammeln und die er als Sekrettropfen erklärt, welche die Eizellen von außen ernähren. Dingler (1910) hat ähnliche Bildungen in der Hodenwand von *Dicrocoelium* gefunden und bezeichnet sie auch als Nährmaterial der Spermatogonien. Ich habe kleine, lichtbrechende Kügelchen nur im Parenchym von *Dicrocoelium* beobachtet, und zwar in der Umgebung der Hoden und des Ovars. Vor allem wird aber jedenfalls das Glykogen des Parenchyms eine hervorragende Nährquelle auch für die Eizellen darstellen, und aus ihm dürften auch die Oocyten den Zucker zum Aufbau ihres Reservekohlehydrats (bei *Fasciola* und *Polystomum*) beziehen.

b) Dotterstock.

Goldschmidt (1909) hat den Beweis erbracht, daß die Dotterstöcke der Trematoden das Material zum Aufbau der Eischale liefern. Er war anfänglich der Meinung, daß die Dotterzellen nur diese Funktion hätten und gar keine Nährsubstanzen bilden; andrerseits erschien es ihm doch auffallend, daß so viele Dotterzellen am Aufbau des Eies teilnehmen.

Da nun die Trematoden überhaupt so außerordentlich viel Glykogen speichern, so lag die Vermutung nahe, daß man bei der Untersuchung dieses Kohlehydrats die Frage nach der Nährfunktion des Dotterstockes

lösen könnte. v. Kemnitz hat nun, von einem derartigen Gedankengang geleitet, die Dotterstöcke von *Fasciola* und *Polystomum* untersucht und reichlich Glykogen in ihnen gefunden. Damit ist für diese beiden Trematoden nachgewiesen, daß die Dotterzellen neben der Bildung des Schalenmaterials auch die Fähigkeit besitzen, Reservestoffe in Form von Glykogen abzulagern, das innerhalb der Eischale dem Embryo zur Ernährung dienen kann. *Dicrocoelium* konnte v. Kemnitz nicht untersuchen, doch ist er der Ansicht, daß »bei dieser *Fasciola* so nahe verwandten Form die Verhältnisse nicht prinzipiell anders liegen« dürften. Im folgenden soll gezeigt werden, daß dies merkwürdigerweise doch der Fall ist. Fig. 4 stellt die Verhältnisse im Dotterstock von *Fasciola* dar. Die ausgewachsenen Dotterzellen sind homogen mit Glykogen erfüllt, an der Peripherie der Zellen liegen kleine mit Delafields Hämatoxylin blau gefärbte Tropfen, aus denen im Uterus die Schale gebildet wird. Innerhalb des Dotterstocks finden sich auch Zellen, die nur Schalentropfen enthalten, doch dies sind jedenfalls junge Stadien, da im Dottergang nur glykogenhaltige Zellen angetroffen werden.

In bezug auf den Glykogengehalt des Dotterstocks lassen sich nun bei den andern Trematodenarten noch zwei verschiedene Typen aufstellen. *Distomum cylindraceum* besitzt Dotterzellen (Fig. 5), die ganz dicht von kleinen Schalentropfen erfüllt sind und in den Zwischenräumen lassen sich geringe Mengen von Glykogen nachweisen. Deutlicher tritt dieses erst hervor, wenn im Anfangsteil des Uterus die Schalentropfen austreten und die früher fein verteilten Glykogenmengen zu der Zelle zusammenfließen (Fig. 6). Alle andern Formen aber: *Distomum cygnoides*, *Lecithochirium* (Fig. 7*a*) und auch *Dicrocoelium* (Fig. 7) bilden in den Dotterzellen nur Schalensubstanz in kleinen oder größeren Tropfen, Glykogen ist niemals vorhanden. Es muß hier im vorhinein bemerkt werden, daß die geringe Glykogenmenge in den Dotterzellen von *Distomum cylindraceum* für die Ernährung des Embryo auch nicht in Betracht kommt, da sie schon in den ersten Eistadien verschwunden ist. Somit wäre für *Dicrocoelium* und alle andern letztgenannten Formen im Gegensatz zu *Fasciola* und *Polystomum* festgestellt, daß ihre Dotterzellen kein Nährmaterial in Form von Glykogen den Eizellen zuführen, und die Frage nach ihrer eventuellen Nährfunktion muß demnach für diese Trematoden vorderhand ungeklärt bleiben. — Wir sehen also, daß trotz sehr naher Verwandtschaft bei zwei Tierformen ein und dasselbe Organ verschiedene Fähigkeiten haben, ein und derselbe physiologische Vorgang ganz verschieden vor sich gehen kann. Denn durch den verschiedenen Bau der Dotterzellen werden natürlich auch die Ernährungsbedingungen des Em-

bryo alteriert. Es ist dieser Fall ein typisches Beispiel dafür, wie sehr man sich vor Analogieschlüssen und Verallgemeinerungen hüten muß und dies wohl ganz besonders auf dem Gebiete der Physiologie, wo kleine Bedingungsänderungen, die uns vorderhand noch verborgen bleiben, den Organismus zu einer neuen Lösung eines Problems zwingen können.

c) Schalendrüse und Laurerscher Gang.

Als Schalendrüse bezeichnet man einen drüsigen Komplex, der um die Vereinigungsstelle von Ovidukt und Dottergang gelagert ist und bei allen darauf untersuchten Formen vorkommen soll. — Da nun die Bildung des Schalenmaterials als Funktion des Dotterstocks bewiesen wurde, so war damit der Zweck der früher so getauften Schalendrüse unverständlich geworden.

Goldschmidt (1909) meinte, daß die Drüsenzellen vielleicht ein Sekret absondern, in dem die Eier suspendiert sind, wobei es sich freilich auch um ein Nährsekret handeln könnte. v. Hofsten (1912), der auch bei Turbellarien die Bildung des Schalenmaterials im Dotterstock nachweist, hält es nicht für ausgeschlossen, daß das Schalendrüsensekret bei der Schalenbildung mitwirke oder daß von der Schalendrüse ein Ferment ausgeschieden werde, vermöge dessen die Schalentropfen aus den Dotterzellen austreten. — Die Glykogenuntersuchung konnte über diesen Punkt keinen näheren Aufschluß geben. Die Drüsenzellen liegen in einem feinmaschigen Parenchymnetzwerk, das selbstverständlich Glykogen enthält, die Drüsen aber sind frei davon. — Der Vollständigkeit halber sei auch konstatiert, daß in der Wand und im Lumen des Laurerschen Ganges niemals Glykogen gefunden wurde.

d) Uteruseier.

Im Bereich der Schalendrüse und im anschließenden Anfangsteil des Uterus treffen Ei-, Dotterzellen und Spermatozoen zusammen und die befruchtete Eizelle wird je nach der Trematodenart mit einer bestimmten Anzahl Dotterzellen in die Schale eingeschlossen. Bei *Fasciola* und *Polystomum* hatte, wie wir sahen, die Oocyte einen kleinen Glykogenvorrat angesammelt; dieser wird offenbar vor den Reifeteilungen verbraucht, denn die Eizellen, welche innerhalb der Schale in Reifeteilung begriffen aufgefunden werden, sind frei von Glykogen. v. Kemnitz konnte beobachten, daß im *Ascaris*-Ei nach dem Eindringen des Spermatozoons eine lebhafte Glykogenabnahme einsetzt, und zwar zunächst in unmittelbarer Umgebung des zerfallenden Glanzkörpers. v. Kemnitz schließt daraus, daß das Spermatozoon dem Ei ein saccharifizierendes Ferment zuführt, durch

welches dem Ei die Möglichkeit gegeben wird, sein Reservematerial zu verarbeiten. Wenn nun bei *Fasciola* und *Polystomum* festgestellt werden konnte, daß die Eizelle im Ovidukt noch Glykogen besitzt, daß dieses aber im befruchteten Ei zur Zeit der Reifeteilungen verschwunden ist, so liegt die Vermutung nahe, daß auch hier die Spaltung des Eiglykogens durch ein bei der Besamung eingeführtes Ferment ermöglicht wird. — Bei diesen Trematoden wird der vollständige Abbau des Glykogens in der Eizelle reichlich wettgemacht durch den Reservevorrat, welchen die zahlreichen Dotterzellen (30—40 bei *Fasciola*) in das zusammengesetzte Ei mitbringen (Fig. 8). Bei der Embryonalentwicklung dürfte jedenfalls ein Abbau des in den Dotterzellen enthaltenen Glykogens stattfinden. Der Vorgang konnte hier nicht verfolgt werden, da die Entwicklung des Embryo erst nach Ablage der Eier einsetzt. Unter andern Bedingungen findet die Bildung des zusammengesetzten Eies bei den übrigen hier besprochenen Trematoden statt.

Bei *Distomum cylindraceum* treten glykogenfreie Oocyten mit je 5—6 Dotterzellen zusammen, die eine ganz geringe Glykogenmenge besitzen. Die Embryonalentwicklung beginnt hier schon innerhalb des Uterus und man sieht das Glykogen gleich während der ersten Furchungen verschwinden; die Dotterzellen selbst zerfallen sehr bald (Fig. 9). So findet man im mittleren Teile der Uteruswindungen einen vielzelligen, glykogenfreien Embryo, um den die zerfallenden Dotterzellen liegen, in der gelblichwerdenden Schale eingeschlossen. Merkwürdigerweise tritt nun in älteren Eiern mit dunklerer Schale auf einmal Glykogen wieder auf (Fig. 10), und zwar scheint es an der Peripherie des Embryo dort sich vorzufinden, wo auch die degenerierenden Dotterzellen liegen; am äußeren Rande der homogenen Glykogenmasse finden sich oft flache Zellen, welche der Hüllmembran angehören. Die Lage des Glykogens ist jedenfalls auffallend und läßt vermuten, daß dasselbe hier innerhalb der degenerierenden Dotterzellen auftritt in ganz ähnlicher Weise, wie wir das später im Embryo der Anoplocephalinen werden beobachten können. Die Embryonen von *Distomum cygnoides* zeigen ganz dieselbe Entwicklung mit plötzlichem Auftreten von Glykogen um den Embryo.

Bei *Dicrocoelium*, wo eine glykogenfreie Oocyte mit 5—6 glykogenfreien Dotterzellen zusammentritt, sieht man in dem Anfangsteil des Uterus Eier, die nur einen vielzelligen Embryo und degenerierende Dotterzellen enthalten (Fig. 11). In den rücklaufenden Schlingen des Uterus tritt eine Änderung ein: der Embryo füllt nicht mehr den ganzen Schalenraum aus, er liegt in der Mitte, die Zellgrenzen verschwinden und statt der vielen Kerne erblickt man nur mehr vier oder schließlich zwei

stark mit Chromatin färbbare Klumpen (Fig. 12). Leuckart (1886) gibt in seiner Beschreibung der Embryonalentwicklung von *Dicrocoelium lanceatum* ganz dieselben Bilder und gibt an, daß das Kernchromatin schließlich zu zwei großen »Körnerhaufen« verschmilzt. Jedenfalls ist es sehr auffallend, daß auf diesem Stadium der Embryo von einer homogenen Glykogenhülle eingeschlossen ist. Es sieht manchmal fast so aus, als ob das Glykogen im Embryo selbst enthalten wäre, was deshalb schwer zu entscheiden ist, weil die Schale in diesen Fällen schon sehr dick und dunkelbraun ist und die Eier beim Schneiden leicht herausspringen, so daß man dann keine Schnitte der Embryonen bekommt. Trotzdem glaube ich sagen zu können, daß das Glykogen außerhalb des Embryo gelegen ist, denn man sieht manchmal Glykogenschollen an der Hüllmembran liegen, welche auf diesem Stadium nach Leuckarts (1886) Beschreibung ganz an der Schale angedrückt ist; es würde somit das Glykogen zwischen Hüllmembran und eigentlichem Embryo, der nach Leuckart sich noch eine Hülle erzeugt, gelagert sein. Es würde dies auch mit einer von Moulinié gegebenen Beschreibung des Embryo übereinstimmen, die Leuckart zitiert. Es wird hier von einer hellen »Substanzmasse« gesprochen, die den Zwischenraum von Schale und Embryo erfüllt und der eine mehr oder minder geschlossene Schicht fettartiger glänzender grober Körner eingelagert ist. Dieses Bild läßt sich gut durch die Glykogenanhäufung an dieser Stelle erklären. Wir sehen also auch bei *Dicrocoelium* Glykogen um den Embryo auftreten dort, wo die zerfallenden Dotterzellen gelegen sind, und auch hier taucht wie bei *Distomum cylindraceum* und *cygnoides* der Gedanke auf, ob das zerfallende Zellplasma nicht im Zusammenhang mit der Glykogenbildung steht. Wir werden später auf diesen Punkt noch zurückkommen müssen. Es wäre ja freilich auch möglich, daß das Glykogen sich hier aus Zucker aufbaut, obzwar eine derartige Polymerisierung innerhalb degenerierender Zellen nicht viel Wahrscheinlichkeit hat. Der Zucker könnte entweder aus dem Parenchym durch die Uteruswand und die jedenfalls eine Zeitlang permeable Schale in das Ei gelangt oder von den Dotterzellen eingeführt worden sein. Der Versuch, Zucker im Uterus oder in den Dotterzellen nachzuweisen nach einer von Champy (1911) angegebenen Methode mittels Reduktion von ammoniakalischem Silber ergab keine verwertbaren Resultate. — Der Zweck dieser verhältnismäßig großen Anhäufung von Reservekohlehydrat im Ei ist ganz klar: es dient jedenfalls dem *Miracidium* zur Ernährung während der Zeit zwischen Eiablage und Ausschlüpfen der Larve, eine Zeit, die ziemlich lang sein kann, da, wie Leuckart angibt, das *Miracidium* von *Dicrocoelium* erst im Magen des Zwischenwirtes ausschlüpft. — Überblicken wir noch-

mals das Verhalten der Dotterzellen in den Uteruseiern der getrennt von *Fasciola* und *Polystomum* besprochenen Trematoden, so wird uns Folgendes deutlich: Wenn es uns früher unverständlich war — bei Betrachtung der Dotterzellen im Dotterstock und in den ersten Stadien der Uteruseier —, was für einen Zweck dieselben außer der Schalenbildung noch im zusammengesetzten Ei haben können, so sehen wir jetzt eine Möglichkeit, ihre Funktion und zwar auch als eine auf die Ernährung des Embryo gerichtete zu erklären. Es ist große Wahrscheinlichkeit vorhanden, daß mit dem degenerierenden Plasma der Dotterzellen die Bildung von Glykogen chemisch in Verbindung steht, und selbst wenn dies nicht der Fall sein sollte, so weist die Lage des Glykogens darauf hin, daß die Dotterzellen auch bei seiner Bildung aus Zucker vielleicht durch Einführung eines entsprechenden Ferments beteiligt sein müssen. Obwohl wir also im Bau der Dotterzellen verschiedene Typen und speziell Unterschiede zwischen *Fasciola* und *Dicrocoelium* fanden, so sehen wir doch, daß die Dotterzellen immer, wenn auch auf verschiedene Weise neben der Schalenbildung der Ernährung des Embryo dienen.

e) Hoden und Vas deferens.

Dingler (1910) hat die Spermatogenese von *Dicrocoelium* untersucht und die Bilder, die er aus dem Hoden dieses Trematoden beschreibt, scheinen typisch für die ganze Ordnung zu sein. Die Entwicklung geht seiner Darstellung nach so vor sich, daß die Spermatocyten I. Ordnung in einer Rosette von 8 Zellen zusammenliegen, so daß schließlich nach den Reifeteilungen 32 Zellen eine Spermatomorula bilden. Werden nun die Spermafäden geformt, so bleibt jeder derselben von einer Plasmaröhre umschlossen. Die Fäden legen sich dann nach einer Seite aneinander und die Spermien scheinen nach rückwärts aus ihren Plasmahüllen zu schlüpfen. Denn es bleibt ein Restkörper übrig — der plasmatische Teil der Morula — und an ihm hängt eine »Locke« aus leeren, röhrenförmigen Plasmafortsätzen. Anfangs sind im Restkörper die Zellgrenzen noch deutlich zu sehen, dann verschwinden sie, das Röhrenbündel wird abgestoßen; in der Plasmamasse tritt Körnelung auf und schließlich Zerfall in eine Menge kleiner Körner. — Ich konnte nun ganz deutlich speziell bei *Fasciola* und *Dicrocoelium* sehen, daß auf dem Stadium des Körnigwerdens im Restkörper feine Glykogentröpfchen auftreten (Fig. 13). Außerdem fand ich im Hoden immer in der Nähe reifer Spermien mit Best-Karmin rötlich gefärbte Fäden, deren Herkunft und Wesen ich mir anfangs nicht erklären konnte. Doch zeigte es sich, daß gelegentlich auch ganze »Locken« (Fig. 14) solcher (mit Best) rotgefärbter Fäden auftreten konnten, wodurch der Schluß

nahegelegt wurde, daß dies die von den Spermien verlassenen Röhrenbündel sein müssen, in denen ebenso wie in den Restkörpern Glykogen auftritt. Wir haben hiermit einen klaren Fall gegeben, wo Glykogen plötzlich an Stellen nachweisbar wird, an denen Plasma degeneriert. — Die physiologische Bedeutung dieses Glykogens wird einem sofort klar, wenn man die Vasa efferentia und die Vesicula seminalis untersucht. Bei allen Formen (nur von *Polystomum* hatte ich zur Untersuchung dieser Verhältnisse nicht genug Material) liegen die Spermatozoen in diesen Organen und besonders in der Vesicula ganz in Glykogen eingebettet und heben sich auf Best-Delafield-Präparaten als blaue Fäden von einem roten Grund ab. Das Glykogen hat hier die Struktur von Fäden (Fig. 15), d. h. es ist den fadenförmigen Plasmafortsätzen eingelagert oder es ist in Form von Körnchen (Fig. 16) vorhanden, die entweder aus Restkörpern oder aus zerfallenen Fäden stammen können. Dieses Glykogen in den Vasa efferentia und in der Vesicula dient jedenfalls der Ernährung der Spermatozoen. Es gelangt auch noch mit den Spermien in den Uterus eines befruchteten Tieres, was ich besonders deutlich bei *Distomum cylindraceum* und *cygnoides* beobachten konnte, wo die Anfangsteile des Uterus gelegentlich ganz vollgepfropft von Sperma sind. Bei *Dicrocoelium* konnte ich auch Sperma mit Glykogenkörnchen im Lumen des Receptaculum seminis feststellen. — Es scheint übrigens allgemeiner verbreitet zu sein, daß Glykogen als Reservestoff zur Ernährung der Spermatozoen fungiert. v. Kemnitz konnte bei *Ascaris* zeigen, daß das Vas deferens zellenartige, mit Glykogen erfüllte Anhänge besitzt, die in das Lumen hineinragen und für die Ernährung der Spermien jedenfalls von Bedeutung sind. Ganz ähnliche Verhältnisse scheinen auch bei Turbellarien zu existieren. Ich möchte hier bemerken, daß Dr. Gelei, der die Glykogenspeicherung bei dieser Ordnung untersucht hat, mir mündlich von seinen Resultaten Mitteilung machte, da mir die ungarisch geschriebene Arbeit nicht zugänglich war. — *Dendrocoelum lacteum* besitzt Glykogen im Epithel des Vas deferens; ferner scheint hier aber auch eine merkwürdige Einrichtung zur Ernährung des Spermas im Receptaculum seminis getroffen zu sein. Dem Ovidukt, dessen Erweiterung das Receptaculum ist, sind riesengroße Zellen angelagert, die mit Glykogen vollgepfropft sind. Gelei ist der Ansicht, daß diese Zellen das Nährmaterial in Form von Zucker für die Spermien liefern, da er beobachten konnte, daß sich diese an der Mündung der Zellen ansammeln, ja sogar in sie hineinwandern können. Dr. Buchner war ferner so freundlich, mir mitzuteilen, daß er bei Insekten, und zwar bei einer Blattlaus *Trepanosipho blattanoides* reichlich Glykogen in der Wand des Vas deferens

gefunden hat; ich überzeugte mich auf seinen Präparaten, daß hier der Glykogengehalt gerade des Vas deferens auffallend ist, da die übrigen Gewebe wenig davon enthalten. Schließlich sei noch erwähnt, daß Barfurth (1885) auch Glykogen in den Geweben des Vas deferens von *Helix pomatia* gefunden hat.

B. Cestoden.

Auch die hier zu besprechenden Cestoden weisen in einem großen Teil ihrer Organe ein übereinstimmendes Verhalten gegenüber dem Glykogen auf. Nur in den Geschlechtsorganen, die ja auch die wichtigsten systematischen Unterschiede abgeben, ließen sich größere Verschiedenheiten in der Glykogenlagerung konstatieren. Darum sollen die ersterwähnten Organe im allgemeinen die letzteren nach den einzelnen Gruppen getrennt behandelt werden.

1. Parenchym.

Über das Parenchym der Cestoden herrschen, wie schon erwähnt, ganz andre Ansichten als über dasselbe Gewebe bei den Trematoden. Stieda, Sommer-Landois und Leuckart vertraten zwar auch die Anschauung, daß das Parenchym der Cestoden aus großen Zellen oder aus zwei Zellarten bestehe, wie dies ähnlich auch bei Trematoden beschrieben worden ist. Zernecke (1896) aber definiert dieses Gewebe bei Cestoden als ein in einer homogenen Grundmasse liegendes reichverzweigtes Netz von Bindegewebszellen, deren Ausläufer von einer Scheide von Zwischensubstanz umhüllt sind. Die Hohlräume der Maschen seien von einer homogenen, unfärbbaren Flüssigkeit erfüllt. Er zitiert Schmidt und Schneider, die ähnliche Ansichten ausgesprochen haben. Dieselbe Auffassung scheinen auch Brault und Loeper und Busch zu vertreten. — Betrachten wir nun die Glykogenlagerung im Cestodenparenchym, so bietet sich uns ganz dasselbe Bild dar, wie im Parenchym der Trematoden. In den hier sehr kleinen Maschen des Netzwerks liegt Glykogen in homogenen, die Masche meist ausfüllenden Schollen (Fig. 17) und dürfte so wohl der von Zernecke beschriebenen Flüssigkeit entsprechen. Wenn also der erwähnte Unterschied im Bau des Parenchyms bestünde, müßte das Glykogen bei Trematoden innerhalb der großen, blasigen Parenchymzellen, bei Cestoden aber extracellulär in Hohlräumen zwischen den verästelten Bindegewebszellen liegen. (Eine solche Verschiedenheit in der Glykogenlagerung ist von Brault und Loeper einfach als Faktum konstatiert worden.) Abgesehen davon, daß eine derartige Verschiedenheit im Bau des Grundgewebes so nahe verwandter Ordnungen auffallen muß, so spricht gerade

die Glykogenlagerung dafür, daß es sich dort, wo das Glykogen liegt, in beiden Fällen um dasselbe Gewebselement, und zwar um Zellen handelt. Denn soviel ich sehen konnte, ist das Glykogen, wo immer es sich im Tierkörper ablagert, stets innerhalb von Zellen gebildet worden. Es ist dieser Satz auch von Barfurth (1885) ausgesprochen worden, welcher dafür Hoppe-Seyler zitiert. Es schienen sich mir anfänglich selbst Einwände gegen die Richtigkeit dieser Behauptung zu erheben dadurch, daß Glykogen, wie v. Kemnitz fand, auch in den Spiculae von *Ascaris*, ferner nach Barfurth, Arnold (1908) und Lubarsch (1906) im Knorpel und nach Barfurth im wachsenden Kaninchenhaar vorkommt. Doch diese Einwände werden hinfällig, wenn es sich herausstellt, daß bei *Ascaris* die Markschichte der Spiculae, wo die Glykogenbrocken liegen, aus dem Plasma von vier Subcuticularzellen besteht, die am Grunde der Spiculumtasche gelegen, in die Höhlung der Spiculae hineinragen (Voltzenlogel 1902), daß ferner Knorpelglykogen immer innerhalb der Knorpelzellen gebildet wird und daß das Glykogen beim wachsenden Kaninchenhaar stets in den Bildungszellen nachgewiesen wurde. Arnold erwähnt, daß es sich manchmal schwer entscheiden ließ, ob Glykogenkörnchen, die am Rande der Knorpelzellen lagen, sich noch innerhalb der Zelle oder pericellulär befanden, und er sieht solches pericelluläres Glykogen als Ausscheidungsprodukt der Zelle an. Davon kann im Parenchym nicht die Rede sein, weil ja das Glykogen ausschließlich in den »Hohlräumen« zwischen den Bindegewebszellen vorkommt. — Nach allem halte ich den Schluß für berechtigt, daß das Parenchym bei Cestoden und bei Trematoden insofern gleich gebaut ist, als es bei beiden blasige Zellen enthält, deren Plasma sich verändert hat, deren Kerne teilweise verschwunden sind und denen die Funktion zukommt, Glykogen aufzustapeln. Die Frage, ob nun bei Cestoden zweierlei Zellen, blasige und verästelte Bindegewebszellen, vorkommen, wie das Leuckart beschrieben hat, soll hier nicht entschieden werden. Es sei nur erwähnt, daß es bei Cestoden tatsächlich den Anschein hat, als ob um die glykogenführenden Zellen noch verzweigte Zellelemente lägen. — Ich konnte bestätigen, daß, wie Brault und Loeper und Busch gefunden hatten, in den Proglottiden mit beginnender Entwicklung der Geschlechtsorgane das Glykogen gleichmäßig in allen Parenchymmaschen verteilt ist, daß es aber bei zunehmendem Wachstum des Uterus allmählich abnimmt. — Ein merkwürdiges Bild bietet das Parenchym in Proglottiden von *Calliobothrium coronatum*, in denen das Glykogen im Abnehmen begriffen ist (Fig. 18). In der Mitte der homogenen, eine Masche ausfüllenden Schollen findet sich oft eine runde, glykogenfreie Höhlung. Ich kann mir nicht denken, daß das Bild auf Fixation zurückzuführen ist, denn

es zeigen jüngere, an derselben Strobila hängende Glieder die normale, homogene Schollenstruktur. Da nun in diesen Parenchymzellen das Glykogen abgebaut wird, so sieht es aus, als ob die Saccharifizierung vom Mittelpunkt der Zelle aus beginnend nach außen fortschreiten würde. — Im Skolexparenchym ist sehr wenig Glykogen enthalten. Nur die Saugnäpfe der Anoplocephalinen und die Bothridien von *Calliobothrium* besitzen viel Glykogen, ebenso fiel mir auf, daß die kleinen Kopfzapfen von *Anoplocephala perfoliata* aus feinmaschigem, sehr glykogenhaltigem Parenchym bestehen. — Bei *Anaplocephala perfoliata* scheint die Rindenschicht glykogenreicher zu sein als die Markschicht, was Brault und Loeper auch bemerkt haben. Es wäre hier auch noch der sterilen Endglieder von *A. perfoliata* Erwähnung zu tun, die Kahane (1880) beschreibt. Er fand von *A. perfoliata* Exemplare, die hinten breit und solche, die spitz mit schmäleren Proglottiden enden. Die letzten Glieder der zugespitzten Formen sind steril und Kahane ist der Ansicht, daß jeder Skolex anfänglich eine Reihe steriler Glieder erzeugt, die sich später ablösen, wodurch dann die breit abgestutzten Formen entstehen. Ich konnte das Vorkommen derartig verschiedener Exemplare bestätigen und fand, daß die sterilen Glieder glykogenärmer, die letzten zwei meist ganz glykogenfrei sind. Dies deutet ebenso wie die Glykogenabnahme in den reiferen Proglottiden darauf hin, daß das Glykogen im Parenchym hauptsächlich von Bedeutung für die Entwicklung der Geschlechtsorgane ist.

2. Muskulatur.

Durch Will (1893) und Zernecke (1896) wurde festgestellt, daß die Muskeln der Cestoden sich auch auf einen nematoiden Typus zurückführen lassen. Die Muskelfasern werden von Myoblasten gebildet, die immer mit ihnen durch plasmatische Fortsätze in Verbindung bleiben; diese Fortsätze treten an einer Stelle in die Fasern ein und gehen hier in die plasmatische Markschichte derselben über. — Auch in der ganzen Muskulatur der Cestoden in den Ring-, Längs-, Transversal- und Dorsoventralmuskeln der Proglottiden und in der speziellen Muskulatur des Skolex und der Saugnäpfe finden wir die Muskelfasern von dichtem Parenchym umsponnen, in dessen Maschen (besonders in der Muskulatur der Proglottiden und der Saugnäpfe) reichlich Glykogen gelagert ist, jedenfalls zur Ernährung der Muskelfasern bestimmt (Fig. 19). Das Glykogen der Myoblasten stellt der Beobachtung ebensolche Schwierigkeiten entgegen wie bei Trematoden. In einzelnen Fällen konnte es in geringen Mengen festgestellt werden. Im Sarcoplasma der Fasern habe ich jedoch keines entdecken können.

3. Subcuticula und Cuticula.

Zernecke (1896) hat die schon von älteren Autoren geäußerte Ansicht bestätigt, daß auch bei Cestoden die Subcuticula ein in die Tiefe gerücktes Epithel sei, als dessen Abscheidungsprodukt die Cuticula anzusehen ist. Die Cuticula und auch die im Parenchym eingelagerten Subcuticularzellen fand ich glykogenfrei (Fig. 19).

4. Faserstränge bei Caryophyllaeus.

Bei *Caryophyllaeus mutabilis* finden sich merkwürdige, faserige Zellstränge, die in der Mitte des Körpers zwischen Hoden- und Dotterstockfollikeln gegen das Vorderende zu verlaufen. Will (1893) hat sie beschrieben und Mrázek (1901) gab ihnen die Deutung als Reste »des früheren Verdauungssystems«. Die Faserzellen enthalten Glykogen in ganz feinen Körnchen und heben sich dadurch auf Best-Delafield-Präparaten sehr deutlich vom Parenchym ab (Fig. 20). Es fiel mir auf, daß das Glykogen dieser Zellen der Speichelverdauung besonders lange Widerstand leistet.

5. Exkretionssystem.

Neben den speziellen Anatomien der betreffenden Cestoden behandelt das Exkretionssystem der Cestoden die Arbeit von Bugge (1902). Die Wände der alle Proglottiden durchlaufenden Längsstämme erwiesen sich als durchwegs frei von Glykogen und im Parenchym waren auch nicht Besonderheiten in der Ansammlung des Glykogens um die Exkretionsgefäße zu bemerken.

6. Nervensystem.

Außer speziellen Darstellungen ist auch für dieses Organsystem auf die Untersuchung von Zernecke (1896) zu verweisen. Ich habe weder in den Fasern der Längsstränge noch in den Ganglienzellen des Skolex Glykogen nachweisen können.

7. Geschlechtsapparat.

a) Anoplocephala.

Beschreibungen der Geschlechtsorgane von *Anoplocephala perfoliata* finden sich in den Anatomien dieses Cestoden von Kahane (1880) und von Zschokke (1886—89), der auch *Anoplocephala mamillana* behandelt. Über die Embryonalentwicklung von *A. plicata* und *A. mamillana* berichten die Arbeiten von Saint-Rémy (1900) und Janitzki (1907). Die Schmalgliedrigkeit dieser Cestoden drückt sich besonders charakteristisch

in der Lagerung der Geschlechtsorgane aus: die Hodenfollikel liegen wie in einer Rispe am gerade verlaufenden Vas deferens aufgereiht und der Uterus zieht sich quer durch die Proglottis. Die Geschlechtsmündungen liegen alle auf demselben Seitenrande. Die drei untersuchten Vertreter der Gattung *Anoplocephala* stimmen sowohl im Bau der Geschlechtsorgane und der Art der Embryonalentwicklung als auch in der Lagerung des Glykogens in diesen Organen und im Embryo überein.

α) Ovarien und Eiweißdrüse.

Die Eizellen enthielten in allen Entwicklungsstadien kein Glykogen.

In der Eiweißdrüse trifft man auf Zellen, die einen stark lichtbrechenden Inhalt und einen randständigen halbmondförmigen Kern besitzen. Auf Best-Delafield-Schnitten färbt sich der Zellinhalt in einem von der sonstigen Delafield-Farbe abweichenden Violett, das mich anfangs vermuten ließ, daß hier neben einer andern Substanz auch noch Glykogen vorliegen könnte. Doch Verdauungsversuche und Jodprobe ergaben kein Resultat, nach dem sich auf Glykogen schließen läßt.

β) Uteruseier.

Der kleine Schalendrüsenkomplex erwies sich als frei von Glykogen. — Die Eizellen werden von den durch die Vagina und das Receptaculum seminis eindringenden Spermatozoen befruchtet und treffen im Bereiche der Schalendrüse mit den Zellen der Eiweißdrüse zusammen, worauf sie in den Uterus gelangen. Hier geht nun die Embryonalentwicklung noch innerhalb des Bandwurmkörpers bis zur Oncosphaera vor sich. — Brault und Loeper erwähnen, daß in den Eiern eine (bei Jodfärbung) bräunliche Masse vorhanden sei, und Busch berichtet, daß in den Eiern Glykogen in geringer Menge vorkommt. Eine nähere Betrachtung zeigt aber, daß die Verhältnisse doch etwas komplizierter liegen. In den Proglottiden, deren Uterus am Beginne der Entwicklung steht, ist derselbe ganz von jungen Embryonen erfüllt, deren Zellen ziemlich viel Eiweißdotter enthalten, aber ganz frei von Glykogen sind, was auch leicht begreiflich ist, da die Eizelle kein Glykogen enthält und ihr auch keine glykogenhaltigen Dotterzellen beigegeben werden. Über die eigentliche Funktion der Eiweißdrüsenzellen wird eine andre Arbeit aus dem hiesigen Institut demnächst Aufschluß geben. Saint-Rémy und Janitzki beschreiben, daß eine Dotterzelle (entspricht der Eiweißdrüsenzelle) immer mit einer Eizelle zusammentritt. Wenn der Embryo eine gewisse Größe erreicht hat — Saint-Rémy beschreibt für dieses Stadium etwa 25 Embryonalzellen — beginnt die Differenzierung der für die Anoplocephalinen so charakteristischen Embryonal-

hüllen. Saint-Rémy führt die Entwicklung der äußeren und der inneren Hülle auf zwei Zellgruppen von je zwei und drei Zellen zurück, die sich schon früh differenzieren und von denen die zwei Zellen, welche als Bildnerinnen der äußeren Hülle zu bezeichnen sind, sich besonders bei der Verarbeitung des Dotters betätigen. Saint-Rémy beschreibt, wie bei *Anoplocephala plicata* und *mamillana* aus den drei dicht um den Embryo gelegenen Zellen eine umhüllende Plasmazone und schließlich eine chitinöse Hohlkugel wird, die an der dem Vorderende des Embryo entsprechenden Seite zwei kegelförmige Auswüchse trägt, die sich in lange, verzweigte Fortsätze ausziehen — den merkwürdigen »appareil piriforme« der Anocephalinen. Ferner zeigt Saint-Rémy, daß die zwei großen, peripher liegenden Zellen eine dicke, ebenfalls chitinöse äußere Hülle bilden, wobei die Kerne und das Plasma der Zellen zu einer granulösen Masse degeneriert.

Es läßt sich nun leicht beobachten, daß in Eiern, die im Begriffe sind, die beiden Hüllen zu bilden, zwischen innerer und äußerer Schale Glykogen auftritt (Fig. 21), das mit dem Wachsen des Eies auch an Masse zunimmt. Ich glaube sicher, daß die »albuminoide, körnige Substanz« oder die »granulöse Masse«, die Saint-Rémy zwischen den beiden Hüllen beschreibt, zum größten Teil aus Glykogen besteht, das ich hier auch immer in groben Körnern gelagert fand (Fig. 22). Dieser reiche Glykogenvorrat, in dem der Embryo samt seiner Hülle liegt, ist jedenfalls zu dessen Ernährung bestimmt, wobei natürlich angenommen werden muß, daß die innere Schale für Zucker permeabel ist. Auch Janiztki meint, die äußere Hülle müsse wohl nutritorische Funktionen gegenüber dem Embryo haben, da die Makromeren, aus denen sie entsteht, den meisten Dotter mit sich führen. Diese Ansicht wird durch die Glykogenbefunde bestätigt, wenn freilich auch in anderer Weise, als es sich Janitzki vorgestellt hat: denn wir sehen in dem zerfallenden Plasma mit dem aufgenommenen Dotter ein Reservekohlehydrat auftreten. Hierbei sei nochmals auf die analogen Resultate bei Trematoden in den Uteruseiern von *Distomum cylindraceum* und *Dicrocoelium* verwiesen. — Auf Eisenhämatoxylinpräparaten, die mir Dr. Buchner freundlichst zur Verfügung gestellt hatte, machte es mir ganz den Eindruck, als ob sich die feinen Verästelungen, die von den Höckern des birnförmigen Apparats ausgehen, an der Innenseite der äußeren Schale inserieren und so den Embryo innerhalb der Schale frei aufhängen würden (Fig. 23). Als Funktion dieser verästelten Fäden wurde von Saint-Rémy angenommen, daß sie den Embryo an der Wand des Wirtsdarmes festzuhalten hätten, damit die Larve Zeit gewinnt, auszuschlüpfen. — Schließlich ließ sich noch feststellen, daß auf Schnitten, die das fertige

Ei mit beiden vollentwickelten Hüllen zeigen und auf denen der Embryo selbst angeschnitten ist, dieser selbst auch Glykogen in feinen Körnchen enthält (Fig. 22). Dieses Glykogen ist jedenfalls aus Zucker aufgebaut, der wiederum dem Glykogen der äußeren Hülle entstammt und dürfte dem Embryo als Reserve für die Zeit nach dem Verlassen der Hüllen dienen.

γ) Hoden.

Von den männlichen Organen ist zu konstatieren, daß die meist nur in den ersten Proglottiden gelegenen Hoden niemals Glykogen aufwiesen; ebenso konnte ich niemals im Inhalte des Vas deferens und der Vesicula seminalis Glykogen entdecken; auch das Lumen der Vagina und des Receptaculum seminis waren frei davon.

b) bei Calliobothrium coronatum.

Eine Beschreibung dieses Cestoden gibt Zschokke (1886—89). *Calliobothrium* steht durch den Bau seiner Geschlechtsorgane den Bothriocephalen insoferne näher, als es Dotterstöcke in der Rindenschicht besitzt und bei reifen Gliedern eine Uterusmündung in der Medianebene besitzt. Die Mündungen des Cirrhus und der Vagina liegen randständig auf beiden Seiten, doch meist in mehreren aufeinanderfolgenden Gliedern auf derselben Seite.

α) Ovar und Dottersack.

Die Ovocyten dieses Cestoden sind durch einen großen Dotterkern ausgezeichnet (Fig. 25). Glykogen fand ich auf keinem Stadium der Eizellen. Die Dotterstöcke zeigen ein ähnliches Bild wie bei Trematoden. Die ausgewachsenen Dotterzellen sind erfüllt von vielen kleinen Tropfen, deren Bedeutung jetzt im zoolog. Institut München untersucht wird. Zwischen diesen Tröpfchen kann man ganz feine Glykogenkörnchen nachweisen (Fig. 24). Im Anfangsteil des

β) Uterus

fand ich oft zerfallene Dotterzellen, an denen sich Kerne, lichtbrechende Tröpfchen und Glykogenkörnchen deutlich erkennen ließen (Fig. 26). Der Embryonalentwicklung konnte ich hier nicht nachgehen, da ich nicht das geeignete Material hatte. Bei *Calliobothrium* lösen sich nämlich frühzeitig kleine Proglottidenketten los, in denen erst die Embryonalentwicklung beginnt; dieses Material war mir leider beim Sammeln entgangen. Vereinzelte Furchungskugeln, die ich in frühen Uterusstadien vorfand, enthielten kein Glykogen wie die analogen Stadien bei *Anoplocephala*.

γ) Hoden und Vas deferens.

In den Spermatogonien und Spermatocyten konnte ich wie überhaupt im Hoden niemals Glykogen nachweisen; es enthalten dieselben jedoch plasmatische Körper, die sehr an die Restkörper bei Trematoden erinnern. Das Vas deferens, das die Proglottis in großen Windungen durchzieht, enthält auffallenderweise zwischen den Spermafäden feine Glykogenkörnchen, die jedenfalls wie bei Trematoden der Ernährung der Spermien dienen dürften (Fig. 27). Ich konnte die Herkunft dieses Glykogens aus den Restkörpern nicht verfolgen, jedoch halte ich dieselbe auch hier für sehr wahrscheinlich.

c) bei Caryophyllaeus mutabilis.

Caryophyllaeus steht als Vertreter der Cestodarien auch im Bau der Geschlechtsorgane den Trematoden am nächsten.

Die Anatomie von *Caryophyllaeus* findet sich bei Will (1893). Die Ovarien, die Schalendrüse, der Uterus und die sich kurz vor der Mündung mit dem Uterus vereinigende Vagina liegen im hinteren Abschnitt des Körpers, der vordere Teil ist erfüllt von Hoden- und Dotterstockfollikeln und dem langen Vas deferens, das im zweiten Drittel durch den Cirrhus neben der weiblichen Geschlechtsöffnung mündet.

α) Ovar, Dotterstöcke und Uterus.

Auch hier ließ sich in den Eizellen kein Glykogen nachweisen. Die Dotterstöcke zeigen die größte Ähnlichkeit mit denselben Organen bei *Fasciola hepatica*. Auch bei *Caryophyllaeus* finden wir die Entwicklung junger, glykogenfreier Dotterzellen zu großen, glykogenreichen Zellen, welche den Eizellen Reservestoffe zuführen. Über die weitere, schalenbildende Funktion des Dotterstockes soll die schon zitierte Arbeit von Müller berichten. — Die Entwicklung der Dotterzellen ist aber bei *Caryophyllaeus* von ganz besonderem Interesse, weil hier der bemerkenswerte Fall eintritt, daß sich auch der Kern an der Glykogenspeicherung beteiligt. Wir finden im Dotterstock junge Zellen mit einem ziemlich großen Kern. Diese Zellen wachsen und nun machen sich Veränderungen in ihnen bemerkbar (Fig. 28, 29). Das Plasma bekommt ein lockeres Gefüge, es wird nur in einzelnen Granulasträngen fixiert, der Kern färbt sich mit Best-Delafield dunkelviolett und sein Chromatin ballt sich zusammen. Auf weiteren Stadien hat sich im Zellplasma Glykogen in Körnern und Brocken abgelagert, im Kern liegt peripher gegen die Kernmembran gedrückt ein anfänglich breiterer, später ganz schmal werdender Ring aus Nucleolarsubstanz, dem das Chromatin in Form eines Klum-

pens eingelagert ist, das Zentrum des Kerns aber ist von einer Glykogenkugel erfüllt. Daß es sich hier um Glykogen handelt, ist durch verschiedene Glykogenfärbungen (Best und Gallustinte) und mittels der Jod- und Speichelverdauungsproben unzweifelhaft gemacht. Den dunkelvioletten Kern mancher Dotterzellen halte ich für ein Zwischenstadium, wo das in geringen Mengen schon aufgetretene Glykogen mit der Delafieldfarbe der Nucleolarsubstanz einen violetten Ton ergibt. — Diese eigenartige Umwandlung des Kerns erinnert stark an die Veränderungen, welche jene Kerne der Amöbe *Pelomyxa* erleiden, die zu Glanzkörpern werden. Goldschmidt (1905) hat die Glanzkörper der *Pelomyxa* aus sich auflösenden Kernen abgeleitet und seine noch unveröffentlichten Beobachtungen sind von Ehrlich (1909) und v. Kemnitz (1912) referiert worden. Da außerdem Stolc (1900) gezeigt hatte, daß diese Glanzkörper größtenteils aus Glykogen bestehen, so haben wir hier einen Fall, wo im Kern das Chromatin zusammengeballt, an die Kernmembran gedrückt und schließlich ausgestoßen wird, während offenbar innerhalb der Nucleolarsubstanz eine Bildung von Glykogen vor sich geht. Ganz wie im Dotterzellkern bei *Caryophyllaeus*, wo nur die vollständige Eliminierung der Chromatinklumpen nicht beobachtet werden konnte. Auf Best-Delafield-Schnitten, die ich von *Pelomyxa* anfertigte, läßt sich deutlich die Ähnlichkeit im Glykogenbilde erkennen (Fig. 30). — Außerdem hat Herr Brammertz, wie er mir mündlich mitteilte, einen ganz analogen Fall in den Dotterkernen des in Entwicklung begriffenen Bieneneies gefunden. Hier zeigen sich in den Kernen, die während der Blastodermbildung im Innern des Eies liegen bleiben, Veränderungen, die damit enden, daß im Kern Glykogenkörnchen auftreten. — Die von Bott (1907) angezweifelte Entstehung der Glanzkörper von *Pelomyxa* aus Kernen hat durch diese Beobachtungen bei *Caryophyllaeus* und im Bienenei sicher noch an Wahrscheinlichkeit gewonnen. — Die Frage nach dem Kernglykogen ist schon vielfach diskutiert worden und in letzter Zeit haben viele Autoren, wie Ehrlich P. (1883), Barfurth (1885), Fichera (1904), Gierke (1905, 1907) und Arnold (1909) die Überzeugung ausgesprochen, daß im Kern niemals Glykogen vorkommt. Die gegenteiligen, jedenfalls unzulänglichen Angaben Kleestadts sind bereits von v. Kemnitz (1912) zurückgewiesen worden, welcher obigen Satz bei *Ascaris* auch bestätigen konnte. Wenn wir nun in den beschriebenen Fällen Kerne fanden, welche verschiedentliche Veränderungen durchmachten und schließlich eine beträchtliche Menge Glykogen innerhalb der Kernmembran aufstapelten, so wird dadurch die Behauptung, daß der Kern stets glykogenfrei sei, eine Abänderung erfahren müssen.

Ich bin auch der Ansicht, daß in funktionierenden Kernen niemals Glykogen auftritt; in untergehenden Kernen jedoch konnte Glykogen nachgewiesen werden und es dürften sich noch mehr solcher Fälle aufzeigen lassen. — Vielleicht handelt es sich auch in dem von v. Kemnitz angezweifelten Falle, wo R. Ehrlich (1909) Glykogen in einem Kerne einer *Ascaris*-Darmzelle beschreibt, um einen derartigen zugrunde gehenden Kern. — Die Dotterzellen von *Caryophyllaeus* sind jedenfalls Nährmaterial, und so werden sie samt ihren Kernen zu Reservestoff umgewandelt. Auf die chemisch noch ungeklärte Bildung des Glykogens aus dem Eiweiß der Nucleolarsubstanz müssen wir noch in der Zusammenfassung zurückkommen.

Im Uterus von *Caryophyllaeus* werden wie bei *Fasciola* mehrere Dotterzellen (mit Plasma- und Kernglykogen) mit einer Eizelle in eine Schale eingeschlossen; das Glykogen dürfte während der Embryonalentwicklung aufgebraucht werden (Fig. 31).

β) Hoden.

Über die Verhältnisse im Hoden kann hier nichts Abschließendes gesagt werden, da mir nur reife Tiere mit starker Eiproduktion zur Verfügung standen, deren Hoden durchwegs in Degeneration begriffen schienen und deren Vas deferens und Vesicula seminalis ich frei von Spermatozoen fand. Es fiel mir auf, daß in den Hodenfollikeln, deren Spermatocyten degenerierten, feine Glykogenkörnchen auftraten wie in den Restkörpern des Trematodenhodens.

C. Hungerversuche.

Mit den meisten zur vorliegenden Untersuchung verwandten Parasiten wurden auch Versuche angestellt, sie außerhalb des Wirtes lebend zu erhalten, um durch Hungern oder Zuführen von Zucker eventuell Veränderungen im Bilde des Glykogenstoffwechsels hervorzurufen. Leider führten diese Versuche trotz häufiger Wiederholung und Anwendung verschiedener Bedingungen nicht zu ausgiebigen positiven Resultaten. Einmal bestätigte sich, daß die Parasiten aus Warmblütern, wie *Fasciola*, *Dicrocoelium* und die Pferdebandwürmer sich nur ganz kurz lebend erhalten ließen (Weinland hatte bei ähnlichen Versuchen [1910] dieselben schlechten Erfahrungen gemacht) und als dann, um die Schwierigkeit der gleichmäßigen Temperaturerhaltung zu vermeiden, Parasiten aus Fischen (*Lecithochirium* und *Calliobothrium*) und aus Fröschen (*Distomum cylindraceum*) verwendet wurden, stellte sich heraus, daß sich diese zwar 6—7 Tage in physiologischer NaCl-Lösung lebend erhalten lassen, daß aber gar

keine Veränderung im Glykogengehalt der Gewebe nach dieser Zeit zu konstatieren ist. — Bei den Experimenten mit den Parasiten aus Warmblütern wurde anfänglich dasselbe Verfahren, das WEINLAND (1901) und v. KEMNITZ bei *Ascaris* angewandt hatten, in Verwendung gebracht. *Fasciola*, *Dicrocoelium* und *Anoplocephala perfoliata* wurden in verschlossenen Gefäßen (mit CO_2-Durchlüftung), die mit 1% NaCl-Lösung gefüllt waren, im Dunkeln bei einer Temperatur von 37° gehalten. Bei diesem Verfahren gingen die Tiere sehr schnell ein und es schien mir, als ob speziell bei den Trematoden die CO_2-Durchlüftung nicht günstig gewirkt hätte.

Etwas bessere Resultate wurden mit *Fasciola* und *Dicrocoelium* erzielt, wenn diese Parasiten in einer ganz zuckerfreien Nährbouillon, die alle 8 Stunden gewechselt wurde, bei 37° im Dunkeln gehalten wurden. Die Tiere blieben zwar auch nur höchstens 33 Stunden lebend, jedoch genügte die Zeit, um eine deutliche Abnahme des Glykogens im Körper hervorzurufen. Bei vier verschiedenen Exemplaren von *Fasciola* und zwei Formen von *Dicrocoelium*, die 25—33 Stunden gehungert hatten, war auf der Bauchseite das Glykogen im Parenchym verschwunden; ebenso hatte es im Parenchym der Seitenränder, wo sich Rücken- und Bauchseite einander nähern, abgenommen. Über eine Abnahme in den Dotterstöcken von *Fasciola* möchte ich kein bestimmtes Urteil abgeben, weil Differenzen im Glykogengehalt bei der geringen Anzahl der in Betracht kommenden Tiere auch auf individuellen Unterschieden hätten beruhen können.

Das Verschwinden des Glykogens gerade auf der Bauchseite der Trematoden und in den Seitenrändern dürfte am ehesten durch eine stärkere Beanspruchung der ventralen und der in den Seitenteilen befindlichen Muskulatur zu erklären sein. Ich konnte beobachten, daß tatsächlich in der Bewegungsart der Tiere sehr häufig Krümmungen, welche durch die Bauchmuskulatur hervorgerufen sein müssen, sowie Kräuselung der Seitenränder vorkommen. Das Glykogen ist als Quelle der Muskelkraft ja jetzt ziemlich allgemein anerkannt und für *Ascaris* wird es von WEINLAND (1901) und v. KEMNITZ ganz speziell als Energiequelle in Anspruch genommen.

Die Anoplocephalinen halten sich fast noch schlechter als die Trematoden, es treten bei ihnen bald Quellungserscheinungen auf und auch in Nährbouillon konnten keine besseren Resultate erzielt werden. — Bei den übrigen Parasiten aus Kaltblütern ist natürlich das Verfahren der Lebenderhaltung wesentlich einfacher. *Lecithochirium*, *Distomum cylindraceum* und *Calliobothrium* hielten sich in 0,75% und 1% NaCl-Lösung,

die alle Tage gewechselt wurde, 6—7 Tage lang. Auch in 2%—4% Lösungen von Dextrose und Maltose in physiologischer NaCl-Lösung blieben *Distomum cylindraceum* und *Calliobothrium* ebenso lange lebend. — Wie schon erwähnt, ergab aber die histologische Untersuchung gar keinen Unterschied zwischen dem Glykogengehalt normaler Tiere und solcher, die 6—7 Tage gehungert hatten, sodaß natürlich auch nicht durch morphologischen Vergleich konstatiert werden konnte, ob die in Zuckerlösung gehaltenen Tiere Zucker aufgenommen und zum Aufbau von Glykogen verwendet hatten. Der Umstand, daß sowohl bei verschiedenen Trematoden als auch bei Cestoden aus Kaltblütern durch siebentägiges Hungern keine merkbare Veränderung in dem Reservevorrat an Glykogen vor sich geht, scheint mir immerhin auffallend und ich kann mir vorderhand keine andre Erklärung denken, als daß die niedrigere Körpertemperatur unter derartigen anormalen Verhältnissen, wie es schließlich der Aufenthalt in physiologischer NaCl-Lösung außerhalb des Wirtes bedeutet, einen langsameren Verlauf der Stoffwechselvorgänge ermöglicht.

IV. Zusammenfassung und Vergleich mit der Glykogenmorphologie bei Ascaris und bei Turbellarien.

Wenn wir nun noch kurz die Glykogenverteilung bei Trematoden und Cestoden überblicken wollen, so ist es vielleicht von Interesse, zum Vergleich die Glykogenmorphologie von *Ascaris* (v. Kemnitz 1912) und von einem Turbellar (Gelei 1909) heranzuziehen. — Bei *Ascaris* wird der in der Nahrung enthaltene Zucker gleich in den Darmzellen zu Glykogen aufgebaut, ebenda findet aber auch der Abbau wieder statt, denn das Isolationsgewebe, das sich zwischen dem Darmrohr und der Muskulatur ausbreitet, ist ganz frei von Glykogen, führt aber Zucker, den es jedenfalls vom Darm zu den übrigen Organen leitet. Aus ihm beziehen die Muskeln, die Subcuticula, die Seitenlinien, die Gonaden und deren Ausführgänge das Material zum Aufbau ihres Glykogens. — Anders liegen die Verhältnisse bei Trematoden und Cestoden. Zucker dürfte wohl auch diesen Parasiten direkt in der Nahrung zur Verfügung stehen. *Fasciola* und *Dicrocoelium* können ihn aus dem Blute, von dem sie sich, wie jetzt allgemein angenommen wird (Jordan 1913), ernähren, beziehen, die darmparasitisierenden Trematoden, sowie die Cestoden wohl ähnlich wie *Ascaris* aus dem Darminhalte ihrer Wirte. Die Frage, ob die Nahrungsaufnahme bei Trematoden auch durch die Körperoberfläche vor sich gehen könne, ließ sich leider experimentell nicht beantworten; es konnte

nur konstatiert werden, daß sich *Distomum cylindraceum* in einer 2 bis 4%igen Zuckerlösung 6—7 Tage lebend erhalten ließ. Für die Cestoden ist man ja allgemein der Ansicht, daß die Nahrung diffus von der ganzen Körperoberfläche aufgenommen wird (Jordan 1913); aus der Glykogenverteilung im Körperparenchym ergab sich kein genauerer Beweis dafür. — Bei Trematoden, die ja noch einen Darm besitzen, muß nun der Gang des Glykogenstoffwechsels, so viel wir sehen konnten, folgender sein: Der mit der Nahrung in den Darm gelangte Zucker wird in den Darmzellen resorbiert, passiert dieselben unverändert und gelangt in die Zellen des Parenchyms. Hier wird er zu Glykogen aufgebaut und das Parenchym mit seinen ganz von Glykogen erfüllten Zellen bildet gewissermaßen eine Vorratskammer für alle Organe, die darin eingebettet liegen. In der Umgebung der Organe wird jedenfalls nach Bedarf Glykogen in Zucker umgewandelt, der entweder von den Organen direkt verbraucht wird, wie das in den Muskelfasern, in der Subcuticula, dem Nervensystem und in den Epithelien der Geschlechtsausführgänge der Fall sein dürfte, oder an anderer Stelle in den Ovarien von *Fasciola* und *Polystomum*, in den Dotterstöcken von *Fasciola*, *Polystomum* und *Distomum cylindraceum*, und in den Myoblasten und Drüsenzellen wieder als Glykogen aufgespeichert wird. Ganz einen ähnlichen Verlauf können wir bei Cestoden erschließen mit dem Unterschiede, daß hier der Nahrungszucker, wie schon erwähnt, durch die Cuticula ins Parenchym gelangen dürfte. — Über den weiteren Gang des Kohlehydratstoffwechsels bei Trematoden und Cestoden und darüber, ob hier auch eine Spaltung in eine niedere Fettsäure und CO_2 vorkommt, ist nichts Näheres bekannt. Weinland (1910) spricht die Vermutung aus, daß es bei Trematoden der Fall sein könnte, weil im anoxybiotischen Versuch bei H-Respiration CO_2 abgegeben wurde und das Außenwasser schwach sauer war. Für Cestoden liegen keine Anhaltspunkte vor. Bevor ich noch auf einen wichtigen Punkt im Glykogenstoffwechsel eingehe, mögen hier die Befunde bei *Dendrocoelum lacteum* zusammenfassend besprochen werden. Gelei fand, daß auch bei diesem Turbellar viel Glykogen in den Darmzellen gespeichert ist; ferner enthalten speziell die blasigen Zellen des Bindegewebes, die aber nur einen Teil desselben ausmachen, Glykogen. Im übrigen konnte dieses Kohlehydrat in den Myoblasten, im Sarcoplasma der Muskelfasern und in geringen Mengen in den Ganglienzellen, reichlich in den Dotterzellen, in den Oocyten, in den Spermatiden, in der Wand des Vas deferens und in den großen Zellen des Ovidukts, sowie in den Epidermiszellen nachgewiesen werden. — Es scheint bei Turbellarien das Bindegewebe nicht in dem Maße Glykogen zu speichern, als dies im Parenchym der Trematoden der Fall ist, denn

die blasigen Zellen, welche hier dem ganzen Gewebe den speziellen Charakter verleihen, sind dort nur zum Teil vertreten. Da Gelei selbst eine andre Art Bindegewebszellen als stoffleitend bezeichnet, so halte ich es für möglich, daß das Bindegewebe der Turbellarien außer der Funktion Reservestoff zu stapeln auch noch den Zweck hat, den aus dem Darmglykogen stammenden Zucker andern Organen zuzuführen. — Im Vorhergehenden wurde stets von der Bildung des Glykogens aus Zucker gesprochen. Immerhin sind uns im Verlauf dieser Arbeit Tatsachen aufgestoßen, die stark für eine andere Entstehungsweise des Glykogens, und zwar aus Eiweiß sprechen. Wir sahen, wie im Kern der Dotterzellen von *Caryophyllaeus* unter Veränderung der Nucleolar- und chromatischen Substanz eine Glykogenkugel entstand, und analoge Fälle konnten in den Glanzkörpern von *Pelomyxa* und in den Dotterkernen des Bieneneies angeführt werden. Ferner zeigten sich in den degenerierenden Restkörpern des Trematodenhodens sowie im Vas deferens von *Calliobothrium* Glykogenkörnchen; auch in den offenbar in Degeneration befindlichen *Caryophyllaeus*-Hoden war Glykogen nachzuweisen und ebenso wäre noch zu erwähnen, daß auch bei *Dicrocoelium* beobachtet werden konnte, wie in nicht mehr normal aussehenden Hoden bedeutend mehr Glykogen zu finden war als in solchen mit normaler Entwicklung. Schließlich mußte auch in den Embryonen enthaltenden Eiern der Anoplocephalinen sowohl wie einiger Trematoden ein auffallender Zusammenhang mit zerfallenden Hüll- bzw. Dotterzellen bemerkt werden.

Unter Chemikern und Physiologen ist die Entstehung von Kohlehydraten aus Eiweiß immer viel umstritten worden. Nachdem einige Autoren wie Langstein dieselbe für möglich gehalten hatten, war dieser Theorie in Pflüger (1903) ein heftiger Gegner entstanden. In neuerer Zeit aber bricht sich doch die Anschauung allgemein Bahn, daß eine Bildung von Kohlehydraten aus Eiweiß möglich sein muß und man hat bereits genauere Vorstellungen über eine derartige Umwandlung aus Aminosäuren entwickelt (s. Cremer [1902], Fürth [1913]). Wenn somit unsere Befunde durch die neueren chemischen Untersuchungen gestützt zu werden scheinen, so darf doch nicht unbetont bleiben, daß bei diesen durchwegs parasitisch lebenden Tieren der Fall anders liegt. Um nämlich aus dem bedeutend sauerstoffärmeren Eiweiß Kohlehydrat bilden zu können, ist jedenfalls eine Aufnahme von Sauerstoff notwendig, welche vermutlich allen hier untersuchten anaëroben Tieren unmöglich ist. Darauf hat Weinland (1907) schon hingewiesen und es scheinen dies auch seine Befunde an *Calliphora* (1907a) zu bestätigen, wo er nur bei Schütteln mit Sauerstoff eine Zunahme an Zucker konstatieren konnte. Es müßte

demnach bei Trematoden und Cestoden der Aufbau des Glykogens durchwegs aus Zucker erfolgen, was freilich im Dotterzellenkern von *Caryophyllaeus* und innerhalb der Embryonalschale von *Anoplocephala* nicht viel Wahrscheinlichkeit für sich hat. — Immerhin kann, so auffallend auch das Auftreten des Glykogens in den oben angeführten Fällen ist, seine Herkunft nicht ohne weiteres aus dem degenerierenden Eiweiß abgeleitet werden und wir müssen es weiteren Untersuchungen überlassen, Klarheit in diese Fragen zu bringen.

Literaturverzeichnis.

Arnold, J. 1908. Zur Morphologie des Knorpelglykogens und zur Struktur der Knorpelzellen. Arch. f. path. Anat. Bd. CXCIV.

—— 1909. Zur Morphologie des Muskelglykogens und zur Struktur der quergestreiften Muskelfaser. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXIII.

Barfurth, D. 1885. Vergleichend-histochemische Untersuchungen über das Glykogen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXV.

Best, F. 1906. Über Carminfärbung des Glykogens und der Kerne. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. XXIII.

Bettendorf, H. 1897. Über Muskulatur und Sinneszellen der Trematoden. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. X.

Biedermann, W. 1910. Handbuch d. vergl. Physiologie. Jena. Bd. II: 1. Hälfte.

Blochmann, F. 1896. Die Epithelfrage bei Cestoden und Trematoden. Hamburg.

Bott, K. 1907. Über die Fortpflanzung von Pelomyxa palustris. Arch. f. Protistenk. Bd. VIII.

Brault, A. und Loeper, M. 1904. Le Glykogène dans le développement de certains parasites (Cestodes et Nématodes). Journal de Physiol. et de Pathol. générale. T. VI.

Braun, M. Trematoden. Bronns Klassen u. Ordnungen. Cestoden. Bronns Klassen und Ordnungen.

Bugge, G. 1902. Zur Kenntnis des Excretionsgefäßsystems der Cestoden und Trematoden. Zool. Jahrb. (Anat.) Bd. XVI.

Busch, P. W. C. M. 1905—1906. Sur la localisation du glykogène chez quelques parasites intestinaux. Arch. Intern. de Physiologie. T. III.

Buschkiel, A. 1908. Notiz über die Kopfdrüsen von Dicrocoelium lanceatum. Zool. Anzeiger. Bd. XXXIII.

Champy, C. 1911. Recherches sur l'absorption intestinale et le rôle des mitochondries dans l'absorption et la sécrétion. Archives d'Anat. Microscop. T. XIII.

Cremer, M. 1902. Physiologie des Glykogens. Ergebn. d. Phys. Bd. I.

Dingler, M. 1910. Über die Spermatogenese des Dicrocoelium lanceatum Stil. et Hass. Arch. f. Zellf. Bd. IV.

Ehrlich, P. 1883. Über das Vorkommen von Glykogen im diabetischen und im normalen Organismus. (In Frerichs: Plötzlicher Tod und Coma bei Diabetes.) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. VI.

Ehrlich, R. 1909. Die physiologische Degeneration der Epithelzellen des Ascarisdarmes. Arch. f. Zellf. Bd. III.
Erhard, H. 1912. Studien über Nervenzellen nebst einem Anhang: Das Glykogen im Nervensystem. Arch. f. Zellf. Bd. VIII.
Fichera, G. 1904. Über die Verteilung des Glykogens in verschiedenen Arten experimenteller Glykosurie. Beitr. zur pathol. Anat. u. allgem. Pathol. Bd. XXXVI.
Fürth, O. v. 1913. Probleme der physiologischen und pathologischen Chemie. Bd. II. Jena.
Gelei, J. 1909—1912. Tanulmányok a Dendrocoelum lacteum Oerstd. szövettánavól (Studien über die Histologie von Dendrocoelum lacteum Oerstd.). Budapest.
Gierke, E. 1905. Das Glykogen in der Morphologie des Zellstoffwechsels. Beitr. zur pathol. Anat. u. allgem. Path. Bd. XXXVII.
—— 1907. Physiologische und pathologische Glykogenablagerung. Ergebn. d. allgem. Pathol. Bd. XI. 2.
Goldschmidt, R. 1905. Die Chromidien der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. V.
—— 1908. Über das Verhalten des Chromatins bei der Eireifung und Befruchtung von Dicrocoelium lanceatum Stil. et Hass. Arch. f. Zellf. Bd. I.
—— 1909. Eischale, Schalendrüse und Dotterstock der Trematoden. Zool. Anz. Bd. XXXIV.
Hein, W. 1904. Zur Epithelfrage der Trematoden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXVII.
Henneguy, L. F. 1906—1907. Recherches sur le mode de formation de l'œuf ectolécithale du Distomum Hepaticum. Arch. d'Anat. Microscop. T. IX.
Hofsten, N. v. 1912. Eischale und Dotterzellen bei Turbellarien und Trematoden. Zool. Anz. Bd. XXXIX.
Janicki, C. v. 1907. Über die Embryonalentwicklung von Taenia serrata Goeze. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXXVII.
Jordan, H. 1913. Vergleichende Physiologie der wirbellosen Tiere. Bd. I. Ernährung. Jena.
Kahane, Z. 1880. Anatomie von Taenia perfoliata Goeze, als Beitrag zur Kenntnis der Cestoden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XXXIV.
Kemnitz, G. A. v. 1912. Die Morphologie des Stoffwechsels bei Ascaris lumbricoides. Arch. f. Zellf. Bd. VII.
Langstein. 1912. Die Bildung von Kohlehydraten aus Eiweiß. Ergebnisse der Phys. Bd. I. 1.
Leuckart, R. 1863. Die Parasiten des Menschen. I. Aufl. Leipzig u. Heidelberg.
—— 1886. Die Parasiten des Menschen. II. Aufl.
Looss, A. 1893. Zur Frage nach der Natur des Körperparenchyms bei den Trematoden. Ber. d. k. sächs. Ges. d. Wiss. zu Leipzig. math.-phys. Kl. Bd. XLV.
Lubarsch, O. 1895. Glykogendegeneration. Ergebn. der allgem. Pathol. I. Jahrg. Bd. II.
—— 1906. Über die Bedeutung der pathologischen Glykogenablagerungen. Arch. f. pathol. Anat. Bd. CLXXXIII.
Mayer, P. 1909. Zur Färbung des Glykogens. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXIV.
Mrázek, Al. 1901. Über die Larve von Caryophyllaeus mutabilis Rud. Centralblatt f. Bakter. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XXIX.
Pflüger. 1903. Glykogen. Pflügers Archiv. Bd. XCVI.
Saake, W. 1893. Studien über Glykogen. Zeitschr. f. Biol. Bd. XXIX.
Saint-Rémy, G. 1900. Le développement embryonnaire dans le genre Anoplocephala. Arch. d. Paras. T. III.

Schellenberg, A. 1911. Oogenese, Eireifung und Befruchtung von Fasciola hepatica. Arch. f. Zellf. Bd. VI.

Stolc, A. 1900. Beobachtungen und Versuche über die Verdauung und Bildung der Kohlehydrate bei einem amöbenartigen Organismus Pelomyxa palustris Greeff. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXVIII.

Schubmann, W. 1905. Über die Eibildung und Embryonalentwicklung von Fasciola hepatica L. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. XXI.

Sommer, F. 1880. Die Anatomie des Leberegels Distomum hepaticum L. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XXXIV.

Stieda, L. 1867. Beiträge zur Anatomie der Plattwürmer. Reicherts Archiv.

—— 1870. Über den Bau des Polystomum integerrimum. Arch. f. Anat. u. Phys.

Taschenberg, E. O. 1878. Beiträge zur Kenntnis ectoparasitischer mariner Trematoden. Abh. d. naturforsch. Gesellsch. zu Halle. Bd. XIV.

Voltzenlogel, E. 1902. Untersuchungen über den anatomischen und histologischen Bau des Hinterendes von Ascaris megalocephala und Ascaris lumbricoides. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. XVI.

Weinland, E. 1901a. Über den Glykogengehalt einiger parasitischer Würmer. Zeitschrift f. Biologie. Bd. XLI.

—— 1901b. Über Kohlehydratzersetzung ohne Sauerstoffaufnahme bei Ascaris, ein tierischer Gährungsprozeß. Zeitschr. f. Biol. Bd. XLII.

—— 1902. Über die Bildung von Glykogen aus Kohlehydraten bei Ascaris. Zeitschr. f. Biol. Bd. XLIII.

—— 1907. Handbuch der Physiologie des Menschen. Bd. II. Braunschweig.

—— 1907a. Weitere Beobachtungen an Calliphora II. Zeitschr. f. Biologie. Bd. XLIX.

—— 1910. Handbuch f. Biochemie. IV. Bd. II. Jena.

Will, H. 1893. Anatomie des Caryophyllaeus mutabilis Rud. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LVI.

Zernecke, E. 1896. Untersuchungen über den feineren Bau der Cestoden. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. IX.

Zieglwallner, Fr. 1911. Über die Fixierung und Färbung des Glykogens und die mikroskopische Darstellung desselben gleichzeitig neben Fett. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. XXVIII.

Zschokke, F. 1886—89. Recherches sur la structure anatomique et histologique des Cestodes. Mémoires de l'Inst. national Génévois. T. XVII.

Tafelerklärung.

Sämtliche Figuren sind nach mit Carnoy fixierten Präparaten angefertigt, die mit Delafield-Bestscher Glykogenfärbung (Glykogen-rot) gefärbt sind, mit Ausnahme von Fig. 23, 29, welche mit Eisenhämatoxylin gefärbt sind. Alle Figuren sind bei 160 mm Tubuslänge auf Objekttischhöhe gezeichnet.

Tafel XVIII.

Alle Fig. (1—16) mit Zeiss' 2 mm Apochromat. Fig. 3, 4 und 8 mit Ocular 2, Fig. 1, 2, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 13 und 14 mit Ocular 4 und Fig. 7 und 7*a* mit Komp.-Ocular 8.

Fig. 1. *Fasciola hepatica.* Im glykogenreichen Parenchym (*p*) eingelagerte Muskelzelle (*m*) (etwas Glykogen), Muskelfasern (*f*) (quer) und Subcuticularzellen (*sb*) (beide glykogenfrei).

Fig. 2. *Fasciola hepatica.* Oocyten (junge glykogenfrei, ältere mit Glykogen) im Ovar.

Fig. 3. *Polystomum integerrimum.* Oocyten (mit Glykogen) aus dem Ovar.

Fig. 4. *Fasciola hepatica.* Dotterstock, ausgewachsene Dotterzellen voll Glykogeu und Schalentropfen.

Fig. 5. *Distomum cylindraceum.* Dotterstock, geringe Glykogenmengen zwischen den Schalentropfen.

Fig. 6. *Distomum cylindraceum.* Dotterzellen mit ausgetretenen Schalentropfen im Anfangsteil des Uterus.

Fig. 7. *Dicrocoelium lanceatum.* Dotterstock (Dotterzellen enthalten nur Schalenmaterial) im glykogenreichen Parenchym gelagert.

Fig. 7*a*. *Lecithochirium rufoviride.* Dotterzellen mit Schalentropfen.

Fig. 8. *Fasciola hepatica.* Uterusei mit einer Eizelle (*e*) (glykogenfrei) und vielen Dotterzellen (*d*) in der Schale (*s*) eingeschlossen.

Fig. 9. *Distomum cylindraceum.* Uterusei aus dem Anfang des Uterus, zwei Embryonalzellen und zerfallende Dotterzellen (kein Glykogen).

Fig. 10. *Distomum cylindraceum.* Uterusei aus dem Eudteil des Uterus, dicke Schale um den Embryo. Glykogen.

Fig. 11. *Dicrocoelium lanceatum.* Uterusei mit dünner Schale, (kein Glykogen).

Fig. 12. *Dicrocoelium lanceatum.* Uterusei mit dicker Schale und entwickeltem Miracidium (viel Glykogen).

Fig. 13. *Dicrocoelium lanceatum.* Restkörper aus dem Hoden im Zerfall, Glykogenkörnchen treten auf.

Fig. 14. *Fasciola hepatica.* Spermatocyten und Spermatiden im Hoden, eine »Locke« plasmatischer Fortsätze, in der Glykogen auftritt.

Fig. 15. *Dicrocoelium lanceatum.* Vas deferens, Spermatozoen, Glykogen an Fäden gebunden.

Fig. 16. *Fasciola hepatica.* Vesicula seminalis, Spermatozoen, Glykogen in Körnchen.

Tafel XIX.

Alle Figuren mit Zeiss' 2 mm Apochromat und Ocular 4, nur Fig. 31 mit Ocular 2 und Fig. 17 und 30 mit Komp.-Ocular 8. (In der Reproduktion Fig. 18, 21, 22, 23, 28, 29, 30, 31 um die Hälfte verkleinert.)

Fig. 17. *Calliobothrium coronatum.* Parenchym einer unreifen Proglottis, Glykogen in großen Schollen.

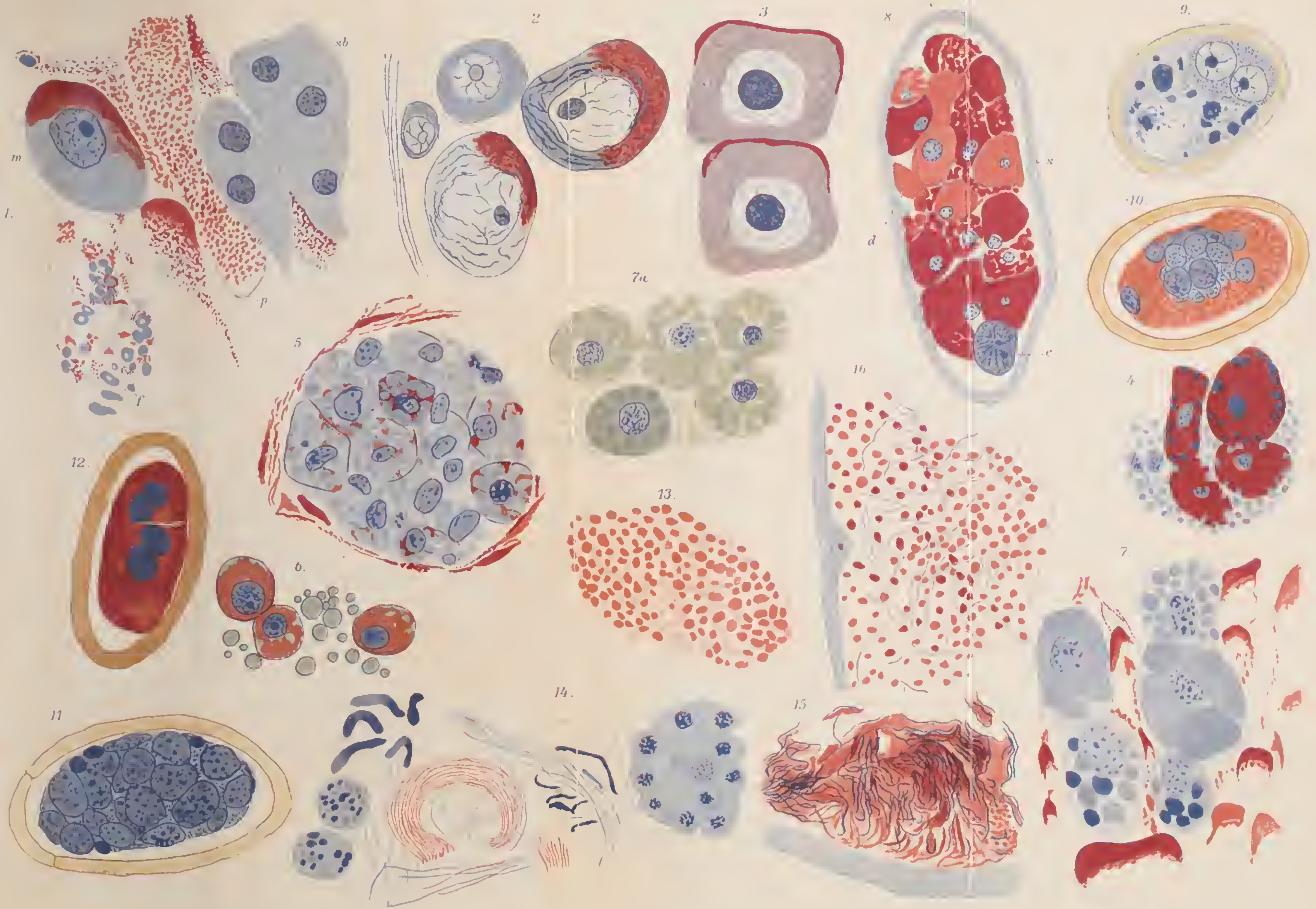
Fig. 18. *Calliobothrium coronatum.* Parenchym einer reifenden Proglottis, Lösungserscheinungen des Glykogens.

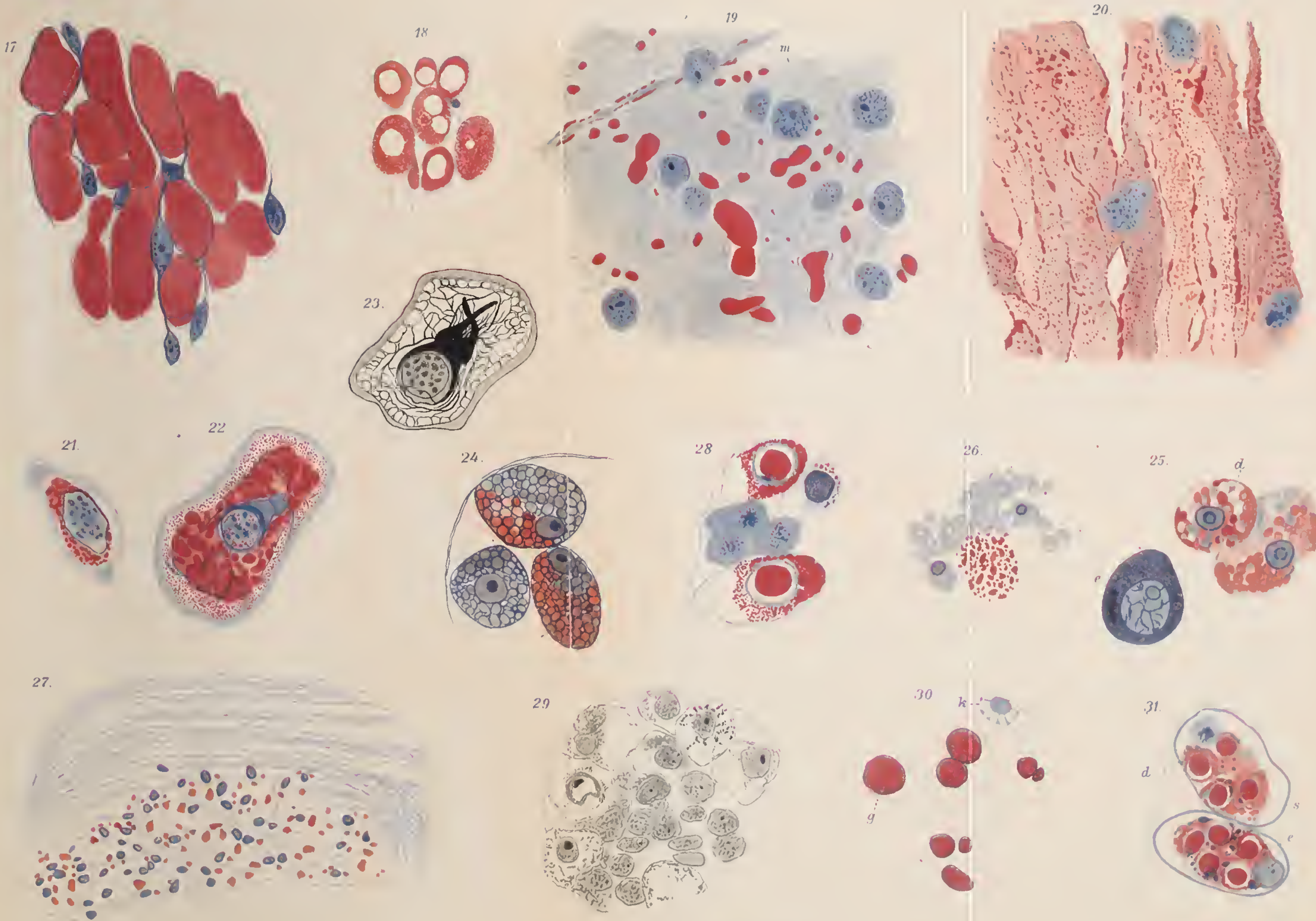
Fig. 19. *Calliobothrium coronatum.* Subcuticula (glykogenfrei). Parenchymmaschen mit Glykogen, Muskelfaser (*m*).

Fig. 20. *Caryophyllaeus mutabilis.* Faserstränge mit Glykogen.

Fig. 21. *Anoplocephala mamillana.* Uterusei in der Entwicklung, Bildung der beiden Embryonalhüllen, zwischen den Hüllen tritt Glykogen auf.

Fig. 22. *Anoplocephala mamillana.* Weiteres Stadium der Embryonalentwicklung, «appareil piriforme» ausgebildet, Glykogen um den Embryo in seiner Hülle und geringe Mengen im Embryo selbst.


1.
m
sb
p
f
2
3
8
s
d
e
9.
10.
4
7a
5
16.
12.
13.
6.
7.
14.
11
15



Ortner - Schönbach gez.

Wilhelm Engelmann

Fig. 23. *Anoplocephala perfoliata.* Embryo mit entwickeltem «appareil piriforme» und äußerer Hülle.

Fig. 24. *Calliobothrium coronatum.* Dotterzellen im Dotterstock mit wenig Glykogen.

Fig. 25. *Calliobothrium coronatum.* Dotterzellen (*d*) (mit Glykogen) und Eizelle (*e*) (ohne Glykogen) im Uterus.

Fig. 26. *Calliobothrium coronatum.* Dotterzellen im Uterus zerfallend.

Fig. 27. *Calliobothrium coronatum.* Vas deferens, Spermatozoen, Glykogen in Körnchen.

Fig. 28. *Caryophyllaeus mutabilis.* Dotterstock, junge und ältere Dotterzellen, in denen im Plasma und Kern Glykogen auftritt.

Fig. 29. *Caryophyllaeus mutabilis.* Dotterstock, Kernveränderungen während der Entwicklung der Dotterzellen.

Fig. 30. *Pelomyxa palustris.* Kern und Glanzkörper (mit Glykogen).

Fig. 31. *Caryophyllaeus mutabilis.* Uteruseier, in der Schale (*s*): eine Eizelle (*e*) und einige Dotterzellen (*d*) mit Glykogen im Plasma und Kern.

Die intracellulären Fibrillen in den Epithelzellen von Oligochäten und Polychäten und das Skelett der Muskelzellen.

Von

Lore Mayer.

(Aus dem Zoologischen Institut München.)

Mit 1 Textfigur und Tafel XX—XXII.

Inhalt.

Einleitung. Literaturübersicht.

Die ältere Cytologie hat sich unter den Bestandteilen der Zelle vorwiegend mit dem Kern und dem Protoplasma beschäftigt; erst in neuerer Zeit ist man auf eine Reihe von andern Strukturen in der Zelle aufmerksam geworden. Es gibt da die verschiedensten Bildungen; man braucht nur an die Mitochondrien, an Holmgrens Trophospongien, Garniers Ergastoplasmafäden, Solgers Basalfilamente zu denken. In der vorliegenden Arbeit handelt es sich aber nur um Fadenstrukturen, und

zwar um solche, welche in Epithelzellen vorkommen: ich habe versucht, eigenartige, in Haut- und Darmepithel des Regenwurms und verschiedener Polychäten gefundene fibrilläre Strukturen in ihrer morphologischen und physiologischen Bedeutung zu erkennen.

Über die funktionelle Bedeutung epithelialer Fibrillen gibt es hauptsächlich zwei Auffassungen: es handelt sich entweder um kontraktile oder um Stützfibrillen. Kontraktile Epithelfibrillen schildert z. B. Holmgren im Magen- und Darmepithel von *Hirudo* und *Proteus*. Aus dem subepithelialen Bindegewebe gehen Fibrillen hervor, welche zwischen den Zellen bis zu den Schlußleisten hinauf reichen, die Zelle von allen Seiten wie in einen Mantel einhüllend. — Etwas Ähnliches schildert W. Polowzow: kontraktile, zwischenzellige Fasern im Pharynxepithel des Regenwurms. Im Gegensatz zu Holmgren konnte Polowzow jedoch keine Verbindung dieser Fasern mit dem subepithelialen Bindegewebe nachweisen. Die Funktion der Fibrillen soll darin bestehen, die Schleimausstoßung ins Pharynxlumen zu besorgen. Diese Auffassung wird noch besprochen werden. — Ein drittes Beispiel kontraktiler zwischenzelliger Epithelfibrillen gibt Lundahl. Er findet im Darmepithel einiger Crustaceen kontraktile Fasern, die hier direkt aus der Muskulatur hervorgehen sollen. Kontraktile Epithelfibrillen können ja hauptsächlich da auftreten, wo es sich um die Frage der Muskelinsertion am Körperepithel handelt. Über diese Frage bestehen Meinungsverschiedenheiten hauptsächlich hinsichtlich der Arthropoden. Man muß hier unterscheiden zwischen 1. der direkten Muskelinsertion an der Cuticula und 2. der indirekten durch Vermittlung von Sehnen. Ein direktes Eindringen von kontraktilen Fibrillen ins Hautepithel behauptet Holmgren. Der Muskelansatz kann nach ihm auf zweierlei Weise erfolgen. Entweder lösen sich die Muskelfibrillen in feine Äste auf und umspinnen die Epithelzellen von außen, oder sie durchsetzen die Zellen selbst. Jedenfalls aber sind sie immer bis zur Chitinschicht der Epidermiszellen zu verfolgen. — Nach Leydig reichen die fein aufgeschlissenen Muskelfasern ebenfalls bis zur Haut; auch Ide vertritt den direkten Muskelansatz an der Cuticula.

Die gegenteilige Ansicht, nämlich eine indirekte, durch Vermittlung sehnig modifizierter Epidermiszellen bewirkte Muskelinsertion, haben wir beispielsweise nach Grobben bei *Argulus*. Die Muskelfasern können direkt mit im Epithel vorhandenen Stützfasern aus Bindesubstanz verschmelzen. Auch Bertkau, Dubosq, Henneguy, K. C. Schneider vertreten die indirekte Muskelinsertion. Diese ganze Frage ist noch wenig geklärt.

Muskulöser Natur sollen ferner nach KOROTNEFF Fibrillen sein, die er im Körperepithel von Planarien fand. Sie sollen mit den Cilien zusammenhängen und eine Art von Flimmerkegel bilden, ähnlich wie es in den *Anodonta*-Darmzellen vorkommt. — Epithelfibrillen, die eine direkte Beziehung zum Flimmerapparat haben, beschreibt METALNIKOFF in den Flimmerzellen der Tentakeln von *Sipunculus nudus*. Obgleich er nur einmal eine subepitheliale Fortsetzung dieser Fasern beobachtet hat, sieht er in ihnen den Innervationsmodus der Flimmerzellen.

Intraepitheliale Stützstrukturen hat HEIDENHAIN beschrieben. Im Darm von Amphibien fand er spiralig gewundene Faserkegel und chromosomenähnliche Bänder und Fäden. Nach HEIDENHAIN handelt es sich in diesen Fällen um Widerstandsfibrillen. Das Gebiet der Stützstrukturen ist aber besonders durch KOLTZOFFS Untersuchungen erweitert worden. KOLTZOFF ist ausgegangen von Untersuchungen über die Elastizität der Dekapodenspermien, welche je nach der Veränderung des osmotischen Druckes wechselnde Formen annahmen. Nach Wiederherstellung normaler Bedingungen kehrten sie zur ursprünglichen Gestalt zurück. Weitere Forschungen über das komplizierte Stützfasersystem im Vorticellenstiel führten KOLTZOFF zur Aufstellung seines leitenden Grundprinzips: alle Zellen, welche von der Kugelgestalt abweichen, die also auf einer gewissen morphologischen Differenzierungshöhe stehen, bedürfen eines festen Skelettes. Ein solches aus Fibrillen bestehendes Skelett kann in sehr mannigfaltiger Weise ausgebildet sein und natürlich auch in Epithelien vorkommen, die ja hoch differenzierte Zellen darstellen. In den Drüsenzellen des Mantelepithels von *Hyalaea* und *Cleodora* z. B. ist nach KOLTZOFF die ganze Zelle von einem System intracellulärer Kanäle durchsetzt. Die Wände dieser Kanäle sind durch ein festes, netzartiges Skelett gestützt. Das Netz wird von feinen, intensiv färbbaren Fädchen gebildet. Aber nicht nur binnen-, sondern auch zwischenzellige Kanäle kommen diesen Zellen zu; auch sie werden durch mindestens zwei formative Fasern gestützt. Schließlich gehören in dasselbe Gebiet der Stützstrukturen die von GOLDSCHMIDT in den Flächen- und Kantenzellen des Ösophagus von *Ascaris* beschriebenen Bildungen. Es sind längs verlaufende Fibrillenbündel und Faserplatten, die aus derben Fibrillen bestehen. Man kann einzelne Fibrillen sich von diesen Platten loslösen sehen. Ferner sind in der Subcuticula von *Ascaris* massenhaft schlauchartige Stützfibrillen vorhanden, aus welchen durch Verschmelzungen breite, bandartige Stützfasern entstehen können. Endlich hat GOLDSCHMIDT die in den Muskelzellen von *Ascaris* vorhandenen »Skelettfibrillen« verfolgt. Es sind das feine Fibrillen, welche zwischen den kontraktilen Leisten der Muskel-

zellen, also in der Zwischensubstanz verlaufend, ein regelmäßiges Gitterwerk bilden. Sie treten aus den Muskelzellen heraus und inserieren an der Cuticula, bewirken also die Verankerung der Muskulatur an derselben.

Die angeführten Beispiele zeigen, wie sich recht verschieden aussehende Bildungen doch unter einen einheitlicheren Gesichtspunkt bringen lassen und verständlicher werden, wenn man ihnen eine bestimmte Funktion (z. B. Stützfunktion oder Kontraktilität) zuerkennt. So könnte auch die vorliegende Arbeit vielleicht zur Klärung der Frage von der Bedeutung solcher Fibrillenbildungen in verschiedenen Organen und bei verschiedenen Tieren einen weiteren Beitrag liefern.

Material und Methoden.

Die Beschaffung des Materials machte keine Schwierigkeiten. Die Regenwürmer hielten sich auch den ganzen Winter über sehr gut in feuchter Erde, die alle 14 Tage bis 3 Wochen gewechselt wurde, in einem kühlen Raume. Die Polychäten, die vergleichsweise untersucht wurden: *Spirographis Spallanzanii*, *Hesione sicula* und *Nereis cultrifera* (?) sammelte ich gelegentlich eines Aufenthaltes auf der Zoologischen Station Rovigno im Oktober 1912. Zur Fixierung wurden verschiedene Gemische verwandt, von welchen sich das Sublimat-Alkohol-Gemisch nach Apathy (3—4 g $HgCl_2$ und 1 g NaCl in 100 ccm 50% Alkohol), eine konzentrierte Sublimatlösung in Seewasser, besonders aber Bendas Modifikation des starken Gemisches von Flemming am besten bewährten. Ich habe auch bei meinen Objekten die Beobachtung gemacht, von der Koltzoff berichtet, daß das Sublimat im allgemeinen die Zellform weniger gut fixiert, da es das Protoplasma zum Aufquellen bringt und durch diese Volumvergrößerung die in den Zellen befindlichen Fibrillen ausdehnt, die dann leicht miteinander verkleben.

Die Färbetechnik war nicht ganz leicht, einmal weil es mir in manchen Fällen auf eine kontrastreiche Färbung verschiedener Gewebe zur Identifikation derselben sehr ankam, besonders aber darum, weil die feinen Fibrillen, wie jeder komplizierte, intracelluläre Apparat, ohne Anwendung spezieller subtiler Methoden sich schwer darstellen lassen. Von einfacheren Färbungen wurden die mit Boraxkarmin, Eisenhämatoxylin nach Heidenhain und Hämatoxylin nach Delafield angewandt. Mit Apathys Goldmethode hatte ich keine guten Resultate; dagegen lieferte die ja leider etwas launische Bendasche Mitochondrienfärbung so klare Bilder, daß sie später ausschließlich zur Verwendung kam. Zur Schnitt-

methode gesellten sich gelegentliche Lebendbeobachtungen der Epithelien und die Anfertigung von Macerationspräparaten. Speziell am Flimmerepithel des Pharynx vom Regenwurm war am meisten nach 24stündiger Maceration in Drittelalkohol zu sehen, und auch nach 24stündiger Aufbewahrung des lebenden Epithels in physiologischer Kochsalzlösung im Eisschrank waren die Zellen mit ihrem Flimmerapparat sehr schön erhalten.

I. Spezieller Teil.

Morphologische Befunde.

1. Die Fibrillen im Pharynxepithel des Regenwurms.

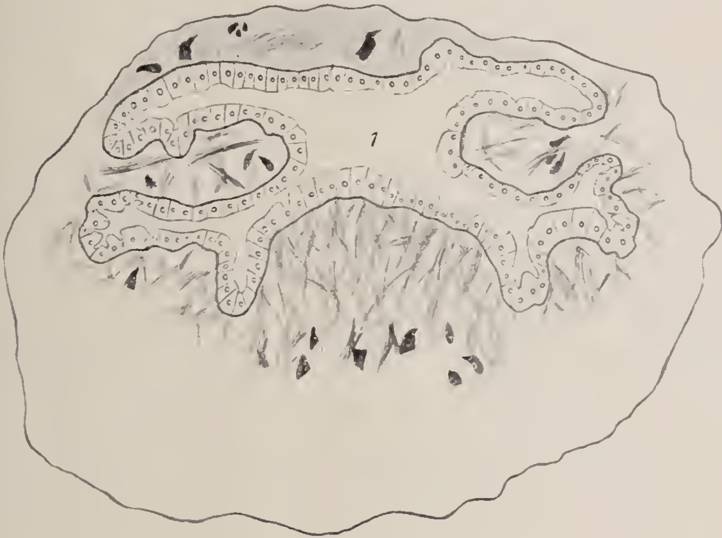
Der Pharynx des Regenwurms erstreckt sich vom dritten bis zum siebenten Segment und hat eine cylindrische, vorn und hinten sich verjüngende Gestalt. Schon äußerlich erkennt man, schwach angedeutet, eine dorsale Verdickung des Organs. Auf Querschnitten kann man dann sehen, daß das Pharynxlumen nicht kreisförmig ist, sondern sowohl dorsalwärts wie von beiden Seiten her von einem weit vorspringenden, mächtigen Muskelwulst stark eingeengt wird. So erhält es eine annähernd H-förmige Gestalt, wie auf beistehender Textfigur zu sehen ist. Sie gibt einen Querschnitt durch die Mitte des Pharynx wieder. Man erkennt, daß das Lumen des Pharynx von einem Epithel ausgekleidet ist, welches durch eine Basalmembran von den andern Geweben des Pharynx abgeschlossen ist. Die Fasern des Muskelwulstes treten, vorwiegend radial angeordnet, von allen Seiten dicht an die Basalmembran heran. Auf der schmalen ventralen Seite des Pharynx dagegen, wo der Wulst fehlt, sind zwischen dem Epithel und der äußeren Pharynxwand fast nur dünne bindegewebige Schichten vorhanden.

Um auf die einzelnen Schichten des Pharynx näher einzugehen, so interessiert uns zunächst das zuinnerst gelegene, die Pharynxhöhle auskleidende Epithel. Es ist ein schlankes Cylinderepithel, das einen dichten Flimmerbesatz trägt. Die Cilien sitzen einer stark färbbaren Reihe von Basalkörnern auf. Die Cilien des Epithels der Muskelwulstseite sind länger und schöner ausgebildet als die der ventralen Pharynxseite. Überhaupt hat das dorsale Epithel schon äußerlich, von inneren Strukturen ganz abgesehen, ein recht anderes Aussehen als das ventrale. Die Zellen sind länger und schlanker, außerdem infolge wechselnder Kontraktionszustände des unterliegenden Muskelwulstes enger zusammengedrängt. So erhält die äußere Kontur des Epithels die Form einer Schlangenlinie, während die

Oberfläche des ventralen Epithels eine mehr oder weniger gerade Linie bildet. Dies erkennt man an Fig. 1, Taf. XX und Fig. 24, Taf. XXII, welche Längsschnitte durch das dorsale und das ventrale Pharynxepithel wiedergeben.

Das Plasma des Pharynxepithels erscheint bald mehr faserig-wabig, bald mehr körnig; besonders im distalen Teil der Zelle ist es meist mehr oder minder dicht feinkörnig. Bei Nachfärbung mit Delafieldschem Hämatoxylin färbt sich diese Zellregion meist stark. Der ovale Kern

Textfigur.



liegt in mittlerer Zellhöhe, enthält einen großen Nucleolus, bisweilen zwei kleinere und ein feines achromatisches Kerngerüst mit eingelagerten Chromatinbrocken. Basalwärts werden die Zellen schmäler und sitzen einer gut entwickelten, stark färbbaren Basalmembran auf. Diese ist vollkommen strukturlos. — In diesen Flimmerzellen fand ich massenhaft Mitosen, auf die ich später noch zurückkomme. Nach außen vom Epithel liegen hauptsächlich zwei Gewebe, welche die Pharynxwand zusammensetzen. Den Hauptbestandteil des Muskelwulstes bildet natürlich die Muskulatur. Die Muskelfasern sind in den drei Dimensionen des Raumes in recht regelmäßiger Weise orientiert. Auf Querschnitten durch den Pharynx (Textfigur) sieht man hauptsächlich solche, die von der Basalmembran zur Peripherie des Wulstes radial ausstrahlen. Andere Fasern

verlaufen parallel zur Basalmembran, hauptsächlich in zwei sich kreuzenden Richtungen, sodaß man auf Flächenschnitten durch den Muskelwulst ein schönes regelmäßiges Gitterwerk zu sehen bekommt. Die einzelnen Muskelfasern sind nach dem Hirudineentypus gebaut, d. h. die kontraktile Substanz umschließt allseitig das axiale Sarcoplasma, in welchem der Kern eingebettet liegt.

Das zweite im Muskelwulst vorhandene Gewebe ist ein recht eigenartiges. Man sieht unterhalb des Epithels, besonders gut an Flächenschnitten durch den ausgebreiteten Pharynx, ein aus breiten, baumförmig verästelten, bandartigen Schläuchen bestehendes Gewebe. Sein Plasma ist sehr feinfaserig in der Längsrichtung; an den Verzweigungsstellen liegen große, ovale Kerne. In Fig. 2, Taf. XX, ist ein kleiner Ausschnitt dieses Gewebes gezeichnet. Ausführlich werde ich auf diese Figur später eingehen.

Das beschriebene Gewebe finde ich in der Literatur nur einmal, bei Polowzow erwähnt, wo ihm die Rolle eines Nervengewebes zugeschrieben wird. Diese Deutung halte ich für ausgeschlossen. Das Gewebe der Nervenfaserstränge bei *Lumbricus* ist lockerer; in den motorischen Fasern — um diese müßte es sich ja handeln — verlaufen gewellte, sich in allen Richtungen überkreuzende, dicke Fibrillen. Sie färben sich stark mit Benda. Nach Schneider ist alle nervöse Substanz von Hüllgewebe umscheidet, in dem sich auch Blutkapillaren und Lamellen von Bindesubstanz finden. Die Nervenstränge haben periphere, durch das Eindringen von Glia- und Nervenzellen bedingte Einkerbungen. — Von alledem war aber in dem genannten Gewebe weder mit Eisenhämatoxylin, noch mit den üblichen Nervenmethoden (Methylenblau, Ramon y Cajals Silberimprägnation, Apathys Goldmethode) etwas zu sehen. Nie fanden sich Ganglienzellen in der Nähe. Die Kerne des Gewebes sind typische Bindegewebskerne, stark färbbar, mit kleinem, oft nicht unterscheidbarem Nucleolus und massenhaften, das Kerngerüst verdeckenden Chromatinbrocken. Die Nervenzellkerne dagegen haben einen großen Nucleolus in der Mitte und ein deutliches Kerngerüst; bei den Kernen des Nervenhüllgewebes endlich ist das Chromatin um einen helleren Binnenraum meist gleichmäßig in Brocken am Rande verteilt (Schneider, vgl. Histologie).

Das beschriebene Gewebe, das ich für ein Bindegewebe halte, steht in naher Beziehung zur Muskulatur. Man kann die Muskelfasern, je nach der Schnittrichtung, an ihm entlang laufen oder auch sich daran anheften, häufig auch sich senkrecht kreuzend über es hinwegziehen sehen. Diesen Zusammenhang mit der Muskulatur habe ich auf Fig. 2, Taf. XX und Fig. 25 und 26, Taf. XXII, darzustellen gesucht. Fig. 26, Taf. XXII, zeigt die

gleiche Gewebspartie wie Fig. 2, Taf. XX, nur bei etwas tieferer Einstellung. Bei geringer Drehung der Mikrometerschraube erscheinen sofort die gitterförmigen, das Bindegewebe kreuzenden Muskelfasern. In Fig. 25, Taf. XXII, dagegen ist eine Stelle gezeichnet, wo die Äste des Bindegewebes quer getroffen sind. Zwischen den kreisförmigen Querschnitten der Gewebszweige ziehen die Muskelfasern in verschiedenen Richtungen hin. Um die quergetroffenen Bindegewebszüge herum gewahrt man dunkle, feinkörnige Stränge von wechselnder Dicke. Es sind Blutgefäße. Manchmal legen sie sich den Verzweigungen des Bindegewebes dicht an, sodaß sie um die Querschnitte eine Art von Scheide bilden. Um die Gefäße herum kann man eine bindegewebige Grenzlamelle und an den größeren, dieser Lamelle aufliegend, ein Endothel mit Kernen unterscheiden.

Was die physiologische Bedeutung des besprochenen Bindegewebes angeht, so halte ich es für ein elastisches Stützgewebe, das die verschiedenen Gewebsschichten miteinander verbindet. Eine funktionelle Analogie könnte man in dem von Goldschmidt in den Flächen- und Kantenzellen des Ösophagus von *Ascaris* beschriebenen Stützgewebe erblicken. Auch hier liegen bindegewebige oder elastische Elemente vor (Loos). Goldshmidt schreibt: »Außer den Muskelbündeln bilden die Flächenzellen noch besondere Stützfasern ... Es sind einzelne längsverlaufende Faserplatten. Die Platten .... verbinden sich vielfach mit einander, sodaß das Ganze als gefensterte Membran anzusprechen ist .... Auch in den Kantenzellen sind die Faserplatten kräftig entwickelt .... Längsschnitte zeigen deutlich die platten- oder bandartige Natur der Gebilde. Die längsverlaufenden Platten stehen ebenfalls verschiedenartig mit einander in Verbindung, so daß in jedem Querschnitt ein anderes Bild entsteht und wir auch hier von ‚gefensterten Membranen‘ reden können.«

Schließlich beteiligen sich am Aufbau des Pharynx noch einzellige Schleimdrüsen, die hauptsächlich am äußeren Pharynxrande angeordnet sind. Den äußeren Abschluß aller Gewebe bildet dann eine dünne Bindegewebslamelle, die rund herum, sowohl auf der Muskelwulstseite wie auf der andern Seite, in gleicher Weise ausgebildet ist.

Nach dieser Schilderung der einzelnen, den Pharynx aufbauenden Gewebe komme ich auf das Epithel zurück. Bei näherer Betrachtung zeigt nämlich das Epithel der Muskelwulstseite eine auffällige innere Struktur, von der auch W. Polowzow berichtet. Das Epithel ist der Länge nach von scharf begrenzten, in Schlangenwindungen verlaufenden Fibrillen durchzogen. Mit Benda gefärbt treten sie sehr schön hervor. Auch an lebenden Flimmerzellen und Macerationspräparaten sind sie als stark lichtbrechende Fäden gut zu erkennen. Auf Fig. 1, Taf. XX, habe ich

einen Ausschnitt des Epithels mit den Fibrillen wiedergegeben. Im distalen Teile der Zelle sind sie manchmal schwer bis ans Ende zu verfolgen, weil sie hier in der stark färbbaren, körnigen Grundmasse der Zelle vielfach verschwinden. Sie scheinen jedoch dicht unter den Basalkörpern der Cilien zu enden. Um ihre Beziehungen zu denselben und zu den Cilien klar zu stellen, wurden Querschnitte durch die oberflächliche Zellschicht gemacht. Auf Fig. 27, Taf. XXII, die einen solchen Querschnitt zeigt, sieht man an der Zellperipherie kreisförmig angeordnete, große dunkle Punkte, welche den Fibrillenquerschnitten entsprechen. Der ganze innere Raum ist ausgefüllt mit viel feineren Pünktchen, den Cilienquerschnitten. Die Fibrillen haben also mit dem Flimmerapparate nichts zu tun. — Querschnitte durch die Epithelzellen sagen auch etwas über die Zahl der Fibrillen aus; es scheinen etwa sieben bis zehn in jeder Zelle vorhanden zu sein. Ferner geben Querschnitte, die etwas tiefer, auf der Höhe der Kerne, durch die Zelle geführt wurden (Fig. 28, Taf. XXII) weiteren Aufschluß über den Verlauf der Fibrillen. Auf der Höhe des Kernes liegen nämlich die Fibrillenquerschnitte näher zusammen. Sie verlaufen also intracellulär, schließen den Kern ein, biegen im distalen Zellabschnitt vielfach auseinander und verlaufen nahe der Peripherie. Im basalen Zellabschnitt treten die Fibrillen näher zusammen und heften sich schließlich in Büscheln an der Basalmembran an.

Daß die Insertion an der Basalmembran für sämtliche Fibrillen Geltung hätte, erschien mir nun von vornherein zweifelhaft. Denn es war auffallend, daß im ventralen Pharynxepithel von Fibrillen nichts zu bemerken war; sie waren nur auf der Muskelwulstseite vorhanden. Es lag also nahe, an irgendwelche Beziehungen der Fibrillen zur Muskulatur zu denken. GOLDSCHMIDTS Befunde an den *Ascaris*-Muskelzellen hatten ergeben, daß die feinen »Skelett-Fibrillen« in ihnen wieder aus den Muskeln heraustreten und bis zur Cuticula zu verfolgen sind, an welcher sie sich befestigen. Vielleicht lag also beim Regenwurm die Möglichkeit vor, umgekehrt die Fibrillen von der Epitheloberfläche an bis hinein in die Muskulatur zu verfolgen. Diese Vermutung hat sich auch bestätigt.

Zunächst ließ sich an günstigen Schrägschnitten durch das Epithel und die darunter gelegenen Gewebspartien feststellen, daß das bandartige elastische Bindegewebe, an dem wiederum die Muskeln zum Teil ansetzen, an manchen Stellen die Basalmembran durchbricht und in das Epithel hineintritt. Fig. 3, Taf. XX, zeigt einen solchen Schrägschnitt. Man sieht die Fibrillen in ihren charakteristischen Schlangenlinien aus den Epithelzellen in die Bindegewebszüge eintreten. Sie sind mit BENDA dunkelviolett gefärbt und heben sich scharf von dem rötlichen Plasma

des Bindegewebes ab. Ein Stück weit sind sie im Bindegewebe immer zu verfolgen. Die schon erwähnte Fig. 2, Taf. XX, stellt einen dicht unterhalb des Epithels, parallel zu seiner Basalmembran, geführten Schnitt dar. Eine dunkle, gewellte Fibrille ist mitten in dem baumförmig verzweigten Bindegewebe zu sehen, das sich zum großen Teil unterhalb des Epithels ausbreitet, seine Verzweigungen aber auch in dasselbe hineinschickt. An den Rändern der Gewebsäste sind massenhaft die dunkeln Anschnitte der aus dem Epithel kommenden Fibrillen zu sehen.

War nun einmal der Eintritt der Fibrillen aus dem Epithel in das zwischen den Muskelfasern sich verzweigende Bindegewebe und ihr Weiterverlauf in demselben bis zur Muskulatur festgestellt, so lag große Wahrscheinlichkeit vor, sie auch in den Muskelfasern selbst zu finden. Die Fälle waren denn auch nicht selten, wo ich sie in den Muskelzellen selbst beobachtet habe. Ihre Anordnung in der Muskelzelle kann eine recht verschiedene sein. Auf Fig. 4a, c, d und Fig. 5a, Taf. XX, sind bei starker Vergrößerung Abschnitte von längsgetroffenen Muskelfasern gezeichnet. Auf jeder dieser Figuren verläuft in der Längsachse der Faser, dicht am Kern vorbei, eine dunkle, geschlängelte Fibrille. Mit den Muskelfibrillen selbst ist sie ihrer völlig andern Gestalt und Färbung wegen nicht zu verwechseln. — Eine andre Modifikation des Fibrillenverlaufs in der Muskelzelle kommt zustande, wenn man sie nicht im axialen Sarcoplasma, sondern auf der Oberfläche der Muskelfaser antrifft: Fig. 5b, Taf. XX, zeigt zwei Fibrillen, welche ein kleines Stück weit von einander parallel auf der Peripherie der Muskelfaser verlaufen, bis die eine die andre überkreuzt. In Fig. 6a stimmt die Verlaufsrichtung der Fibrillen nur zum Teil mit derjenigen der kontraktilen Fasern überein; auf Fig. 6b haben wir einen Fall, wo die Richtung der oberflächlich verlaufenden Fibrillen sogar beinahe einen rechten Winkel mit der Verlaufsrichtung der Muskelfasern bildet.

In den letztgenannten Fällen waren es immer einzelne Fibrillen; manchmal laufen auch mehrere neben einander her. Zuweilen sind aber auch zwei oder drei zu einem dichten Bündel verflochten, wie aus Fig. 5c, Taf. XX, ersichtlich.

2. Die Fibrillen im Hautmuskelschlauch des Regenwurms.

Nachdem also Beziehungen der Fibrillen zu andern Geweben, speziell der Muskulatur, im Pharynxepithel erwiesen waren, lag es nahe, nicht nur ihre Anwesenheit, sondern auch ähnliche Zusammenhänge in andern Körperregionen zu vermuten. Denn wenn ihnen eine bestimmte Funktion in bezug auf die Pharynxmuskulatur zukommen sollte, so war

anzunehmen, daß sie die gleichen Aufgaben hinsichtlich der noch stärker entwickelten Körpermuskulatur zu erfüllen hätten. Ich wandte also zunächst meine Aufmerksamkeit dem Hautmuskelschlauch zu.

Um nun zunächst an die Topographie des Hautmuskelschlauches des Regenwurms kurz zu erinnern, so haben wir von außen nach innen: 1. das Körperepithel, welches distalwärts durch eine starke Cuticula, basalwärts durch eine Basalmembran abgeschlossen wird. Darauf folgt dann 2. eine kräftige Ringmuskelschicht und 3. zu unterst eine noch dickere Längsmuskelschicht.

Das Hautepithel setzt sich hauptsächlich aus drei Elementen zusammen: den gewöhnlichen Epithelzellen (»Deckzellen«, K. C. Schneider), Drüsenzellen und Sinneszellen. Die gewöhnlichen Epithelzellen sind schmale, cylindrische Zellen mit längsstreifigem Plasma. Zwischen diesen sind Schleimzellen von schlanker oder plumper Gestalt — je nach ihrem Funktionszustand — mit halsartig verjüngtem oberem Abschnitt reichlich eingestreut. An den Schleimzellen sind alle Stadien der Reife leicht zu beobachten. In den jungen Drüsenzellen findet sich ein zartes Maschenwerk, in dem sich dann die anfangs kleinen, später größeren Secretkörner ansammeln. Vor der Entleerung verschmelzen sie im distalen Teil der Zelle zu einem kompakten Schleimpfropf. Nach der Ausstoßung des Secrets erscheinen die Zellen schlanker und seitlich etwas zusammengeschrumpft. Der Kern liegt basal. — Die Sinneszellen stehen in Gruppen beisammen, sind länger und schmäler und tragen kurze, feine Sinnesstiftchen, welche durch die gewölbte Cuticula hervorragen. — Die Basalmembran des Epithels ist besonders stark entwickelt, was vielleicht damit zusammenhängt, daß das Epithel durch die Secretion stark in Anspruch genommen und seitlichen Verschiebungen leicht ausgesetzt ist.

Unter der Basalmembran ziehen in mehreren Schichten die Ringmuskelbündel hin. Die einzelnen Bündel werden in regelmäßigen Abständen durch Bindegewebssepten von einander getrennt. Querschnitte durch die Ringmuskelschicht zeigen, daß die einzelnen Muskelfasern der Bündel zu beiden Seiten der sie trennenden Septen ziemlich regelmäßig angeordnet sind.

Nach ganz ähnlichem Prinzip, nur noch regelmäßiger, ist bekanntlich die schon oft beschriebene, zu innerst gelegene Längsmuskulatur des Regenwurms gebaut. Auch hier sind die einzelnen Muskelfasern in hohen, schmalen Kästchen angeordnet, die durch dünne Bindelamellen von eineinander getrennt werden. Die schmalen Seiten der Kästchen stoßen nach außen zu an das Bindegewebe der Ringmuskelschicht, nach innen an eine peritoneale Grenzlamelle. An den Breitseiten der Kästchen, den

trennenden Bindelamellen nämlich, sind die Muskelfasern jederseits fiederblattartig angeheftet.

Schließlich wäre noch das Bindegewebe der beiden Muskelschichten zu erwähnen. Die Basalmembran geht unmittelbar in ein sehr feinfaseriges Bindegewebe über. Dieses bildet nicht nur die Septen zwischen den Ringmuskelbündeln, sondern umgibt sie auch, sich zwischen den einzelnen Muskelzellen netzförmig verzweigend, gleichsam mit einer starken elastischen Scheide. Auf Fig. 29, Taf. XXII, welche einen Querschnitt durch die Ringmuskulatur wiedergibt, habe ich dieses Bindegewebe dargestellt. Es ist im Präparat, ebenso wie die Basalmembran, zart rosa gefärbt (Eosinnachfärbung nach Eisenhämatoxylin), während die Muskelquerschnitte tiefschwarz erscheinen.

Beddard hat ähnliche Verhältnisse bei den Oligochäten *Perionyx* und *Perichaeta* beschrieben. Da sich das Bindegewebe strukturell und tinktoriell nicht von der Basalmembran unterscheidet, so ist diese wohl als Ausscheidungsprodukt desselben, — nicht des Epithels — zu betrachten, eine Ansicht, die in der Literatur von Frey, Dönitz, Eberth, Kölliker u. a. vertreten ist. — In diesem Bindegewebe, wie auch in dem des Pharynx und sogar im Hautepithel fand ich massenhaft die von K. C. Schneider beschriebenen Bakteroiden. Meist bildeten sie größere Haufen, in welchen je zwei dicht zusammenlagen. Sie färbten sich mit Benda sehr stark. Eine feinere Struktur konnte ich an ihnen nicht unterscheiden.

Wie verhält sich nun das Hautepithel in bezug auf die Fibrillen? Sie sind auch hier stark entwickelt, und zwar finden sie sich in allen Regionen der Haut, sowohl am Vorderende, als auch in der Mitte und am Hinterende des Wurms in gleicher Weise. Fig. 7, Taf. XX, illustriert den Fibrillenverlauf im Hautepithel. Die Figur stellt einen Sagittalschnitt durch die Körperwand dar. Das Epithel muß dabei längs-, die Ringmuskulatur quergetroffen werden. Die Längsmuskulatur ist nicht mit wiedergegeben. Man sieht die Fibrillen, im Gegensatz zur charakteristischen Schlängelung im Pharynx, im Hautepithel schnurgerade durch die Zellen ziehen. Später stellte sich eine einfache Erklärung für diese mich anfangs überraschende Tatsache ein, auf die ich noch zurückkomme. Die Zahl der Fibrillen beträgt auch hier etwa sieben bis zehn in jeder Zelle. An günstigen Stellen sind sie bis zu ihrer Befestigung an der Cuticula zu verfolgen, wie aus Fig. 31, Taf. XXII, auf welcher vier Epithelzellen bei starker Vergrößerung gezeichnet sind, ersichtlich ist. An dem in der Zellmitte gelegenen Kern ziehen die Fibrillen an allen Seiten vorbei, ihn wie in einen Mantel einhüllend. Unter dem Kern laufen sie näher

zusammen und befestigen sich schließlich auch hier zum Teil an der Basalmembran, welche an diesen Insertionsstellen nach dem Zellinnern hin in papillenartige Fortsätze ausgezogen ist. Gelegentlich sah ich sie aber auch die Basalmembran durchziehen. Teils verlaufen sie dann in Wellenlinien dicht unter derselben und parallel mit ihr, teils treten sie in die Bindegewebssepten der Muskulatur ein. Die schon erwähnte Fig. 7, Taf. XX, gibt eine solche Stelle wieder. Rechts dicht unter der Basalmembran treten einzelne feine Fibrillen in eine Ringmuskelzelle ein.

Um mir über die Art des Fibrillenverlaufs unterhalb des Epithels nähere Aufklärung zu verschaffen, suchte ich verschieden starke Kontraktionszustände in der Muskulatur hervorzurufen und wählte dazu als einfachstes das elektrische Verfahren. Die Versuche, bei welchen mich Herr Dr. K. von Frisch freundlich unterstützte, wurden mit einem der gebräuchlichen Induktionsapparate angestellt. Die Nadelelektroden wurden an zwei nahe gelegenen Stellen unter die Haut des Tieres eingeführt und dasselbe nach eingetretenem Tetanus sofort fixiert. Auch der Pharynx ließ sich auf diese Weise, sowohl in seiner natürlichen Lage im Tier selbst, als auch nach vorherigem Herauspräparieren in starken Reizzustand versetzen. Die Reizpräparate zeigten nun ein verändertes Aussehen aller in Betracht kommenden Gewebe. Schon äußerlich konnte man an der starken Einbuchtung der Körperwand und Verdünnung des Wurmkörpers erkennen, daß sich die Ringmuskulatur stärker kontrahiert hatte als die Längsmuskulatur. Das Epithel war infolgedessen seitlich stark zusammengepreßt und im Bestreben, nach außen auszuweichen, in die Länge gezogen. Im Ruhezustand maßen die Zellen in der Längsrichtung durchschnittlich 80—90 μ, im Reizzustand 106—110 μ. Ein Blick auf die Fig. 8 und 9, Taf. XX, läßt diese Deformation des Epithels im Reizzustand erkennen. Die Epitheloberfläche ist stark vorgewölbt und in viele kleine Falten gelegt. Die Kerne sind meist in den basalen Teil der Zelle gerückt und stark verlängert und verschmälert, manchmal sogar abwechselnd in zwei Reihen angeordnet. (Ganz ähnliche Bilder erhielt ich übrigens, um dies hier gleich mitzuerwähnen, von Pharynx-Reizpräparaten. Das Pharynxepithel war gleichfalls stark gedehnt. Einer natürlichen Länge von 80 bis 84 μ entsprach eine jetzige von 130—135 μ.) Fig. 9, Taf. XX, zeigt, daß die stark gedehnten Fibrillen es sind, welche mit dieser Vorwölbung und Faltung des Epithels im Zusammenhang stehen. Auf Fig. 32, Taf. XXII, ist ein kleines Stück der Epitheloberfläche aus einem Reizpräparat allein dargestellt. Die verlängerten Fibrillen haben die Oberfläche in viele kleine, spitze Zacken ausgezogen. Innerhalb der Zelle verlaufen sie wie straff gespannte Fäden. Wo das Zellplasma teilweise zerstört ist (Fig. 8,

Taf. XX) treten sie einzeln frei hervor. Von der Basalmembran sind sie manchmal abgerissen und ihr unteres Ende hakenförmig umgebogen. Was aber an den Reizpräparaten am meisten auffällt, ist das massenhafte Durchtreten der Fibrillen durch die Basalmembran in die Muskelschichten. Auf Fig. 11, Taf. XX, ist eine solche Stelle gezeichnet. Aus dem Epithel kommend, lagern sich die Fibrillen teils innerhalb, teils schon unter der Basalmembran bündelförmig zusammen und treten in ein Muskelseptum ein; diesen Weg bevorzugen sie begreiflicherweise auf ihrem Wege in die tieferen Muskelschichten. Nicht nur in Bündeln, sondern auch einzeln kann man sie durch die Basalmembran hindurchziehen sehen. Manchmal scheint eine Fibrille in ihr zu verschwinden, um dann auf der andern Seite in ihrer genauen Verlängerung wieder aufzutauchen. Eine Erklärung hiefür kann ich nicht angeben. Auf Fig. 12, Taf. XX, habe ich ein Übersichtsbild des Hautmuskelschlauchs wiedergegeben, wie es sich auf Querschnitten darbietet. Die violett gefärbten Fibrillen treten in Menge aus dem Epithel in die Ringmuskelschicht ein, durchqueren sie und verzweigen sich in der Längsmuskulatur. Auf Fig. 8 sieht man sie die Ringmuskelschicht durchsetzen. — Diese massenhaften Durchtritte in den Reizpräparaten kann ich mir nur so erklären, daß die Fibrillen infolge der starken Kontraktion der Muskulatur, besonders der Ringmuskelschicht, sowie der seitlichen Pressung des Epithels auf einen kleineren Raum zusammengedrängt werden und teilweise verkleben. Dadurch färben sie sich natürlich stärker und werden leichter sichtbar, als es bei einer einzelnen feinen Fibrille der Fall sein würde. (Wäre nicht der starke färberische Unterschied, so könnte man die Fibrillen manchmal für Muskelfasern halten. Auf Eisenhämatoxylin-Präparaten sind sie stark zusammengebacken, so daß man die einzelnen Fibrillen oft nicht zu unterscheiden vermag.) — In einzelnen seltenen Fällen — bei der Feinheit der Fibrillen ist die Beobachtung schwierig — sah ich die Fibrillen in die Muskelzellen selbst eindringen: Fig. 15, 16, Taf. XXI. In Fig. 15 gibt die Fibrille im Sarcoplasma der Muskelzelle noch einen feinen Seitenzweig ab. Meist aber umschlingen die Fibrillen die Muskelzellen von außen und geben kleine Seitenäste an benachbarte ab. Beispiele solcher Fälle geben die Fig. 17a, b und Fig. 18, Taf. XXI. Fig. 13, Taf. XXI, zeigt eine dicke wellige Fibrille, welche in dem Bindegewebe zwischen den beiden Muskelschichten verläuft.

Die durch Schnitte gewonnenen Resultate wurden bestätigt durch das Studium von Macerationspräparaten. Pinselt man in Hautmacerationspräparaten die Längsmuskelschicht vorsichtig ab, so kann man in dieser feine Fäden quer durchziehen sehen; sie scheinen bis in tiefe

Schichten der Längsmuskulatur vorzudringen. Meist jedoch sind sie unterhalb der Ringmuskulatur abgerissen und ragen als kurze gekrümmte Fädchen aus ihr hervor.

Auch hier, im Hautmuskelschlauch, verhalten sich also die Fibrillen ganz ähnlich wie im Pharynx. Ihre Bedeutung ist dementsprechend wohl die gleiche wie dort.

3. Die Fibrillen in andern Körperregionen des Regenwurms.

Die positiven Befunde im Hautmuskelschlauch veranlaßten mich, auch in andern Regionen mit gut entwickelter Muskulatur nach fibrillären Bildungen zu suchen. Der muskulöseste Abschnitt des Darmtractus nach dem Pharynx ist der sogenannte Muskelmagen. Das 16. bis 18. Segment umfassend, schließt dieser unmittelbar an den Magen oder Kropf an und leitet in den Darm über. Seine Wandung besteht aus einem Flimmerepithel und aus zwei äußerst starken Muskelschichten, einer inneren Ring- und einer äußeren Längsmuskellage. Wie erwartet, sind die Fibrillen im Epithel des Muskelmagens sehr gut entwickelt; auch hier verlaufen sie gestreckt. Anordnung und Verlauf der Fibrillen in diesen Zellen erinnern überhaupt sehr an die im Körperepithel bestehenden Verhältnisse. Ein Zusammenhang der Fibrillen mit den Cilien ist auch im Muskelmagen nicht vorhanden. Auf Fig. 34, Taf. XXII, sind vier Zellen des Magenepithels abgebildet. In den beiden zu äußerst gezeichneten Zellen rechts und links sieht man dicht unter der Basalkörperreihe etwa neun bis zehn große, mit Eisenhämatoxylin stark färbbare, stabförmige Verdickungen. Sie stellen, wie auch auf den beiden mittleren Zellen hervortritt, den Endschaft der Fibrillen dar, denn nach dem Zellinnern zu verlängern sie sich in die Fibrillen. Die Basalkörner sind kleiner und in viel größerer Zahl vorhanden als diese verdickten Fibrillenenden. Die Anheftung der Fibrillen erfolgt auch im Muskelmagen meist an der Basalmembran. Des öfteren sieht man aber auch hier, wie einzelne dunkle Fibrillen sich zwischen den Muskelzellen der Ringmuskulatur hindurchwinden und verzweigen.

Die Untersuchung des eigentlichen Darmepithels an den verschiedensten Stellen, auch in der gleich hinter dem Muskelmagen gelegenen Gegend, hatte ein entgegengesetztes Resultat: Weder in der Höhlung selbst noch auf der Typhlosolis war etwas von Fibrillen zu bemerken. Das ist nach dem Vorhergehenden aber wohl nicht weiter merkwürdig; es paßt sogar gut zu den positiven Befunden. Denn die Darmmuskulatur besteht nur aus je einer dünnen, einschichtigen Ring- und Längsmuskellage; auf der Typhlosolis sind ebenfalls Muskelfasern nur spärlich vorhanden.

Schließlich wurde noch das Epithel des Clitellums geprüft, und zwar aus einem später zu erörternden Grunde. Die Untersuchung des Gürtels nahm ich nicht während seiner stärksten Ausbildung, im Frühjahr, vor, sondern in den späteren Monaten, zu einer Zeit also, wo im Epithel zwischen den großen Hautdrüsen auch noch unmodifizierte Epidermiszellen zu finden sind. Das Epithel des Gürtels ist bekanntlich von der Ringmuskelschicht durch massenhafte, in mehreren Schichten übereinanderliegende Drüsenzellen von riesigen Dimensionen getrennt. Die Dicke dieser Drüsenschicht kann die der unterliegenden Ringmuskelschicht um das drei- bis fünffache übertreffen. Zwischen die Drüsenzellen schieben sich in regelmäßigen Zwischenräumen Bindegewebssepten, die zwischen Epithel und Ringmuskulatur ausgespannt sind. außerdem Muskelfasern und Blutgefäße ein. Die Drüsen sind meist mit feinkörnigem Secret erfüllt und münden mit langem, schlankem Hals oben zwischen den Epithelzellen aus. — Auf die Drüsenschicht folgen dann nach dem Körperinnern zu wie immer die Ring- und die Längsmuskelschicht; beide sind ebenso gebaut wie die Hautmuskelschichten des übrigen Körpers. Die Untersuchung des Gürtelepithels hatte ein negatives Ergebnis: Fibrillen waren nicht zu finden.

4. Analoge Befunde bei Polychäten.

Wenn eine Gesetzmäßigkeit in dem Auftreten solcher intraepithelialer Fibrillen in der Nähe der Muskulatur überhaupt bestehen sollte, so war nicht anzunehmen, daß dieselben auf den Regenwurm beschränkt seien. Deshalb untersuchte ich noch einige stark muskulöse Polychäten, nämlich *Spirographis Spallanzanii*, *Hesione sicula* und *Nereis cultrifera*.

Histologisch betrachtet, ähnelt der Pharynx von *Spirographis* dem des Regenwurms in mancher Beziehung. Wir haben zuinnerst wieder ein Flimmerepithel. Am Flimmerapparat lassen sich bei günstiger Differenzierung folgende Teile von innen nach außen gut unterscheiden: Über einem hellen Saum am distalen Zellende sitzt eine stark färbbare Reihe innerer Basalkörner. Darauf folgt eine Schicht von feinen Zwischengliedern, die mit einer etwas stärker färbbaren Verdickung enden und von den hellen, steifen Fußstücken der Cilien kaum abgesetzt sind. Die Fußstücke gehen direkt in die beweglichen Flimmerhaare über. Das Epithel sitzt einer besonders breiten Basalmembran auf. Diese geht in ein äußerst regelmäßiges, durch runde, fensterartige Löcher unterbrochenes, membranöses Bindegewebe über. Ich habe es in Fig. 36, Taf. XXII, darzustellen versucht. In den Löchern zwischen den Verzweigungen des

Gewebes liegt braunes, körniges Pigment. An das Bindegewebe schließen sich dann nach außen hin wieder die Muskelfasern an.

Was die Fibrillen betrifft, so sind sie im Pharynxepithel von *Spirographis* massenhaft vorhanden. Fig. 19, Taf. XXI, zeigt eine drüsige Stelle des Epithels mit leicht gewellten, die Zelle der Länge nach durchziehenden Fibrillen. Sie sind bei *Spirographis* besonders gut bis zu ihren Endverdickungen zu verfolgen, wie Fig. 35, Taf. XXII, zeigt. (Auf den beiden Zellen am weitesten nach links sind die Cilien nicht erhalten.) Man kann auch hier in jeder Zelle neun bis zehn Fibrillen zählen. Auch bei *Spirographis* befestigt sich ein großer Teil der Fibrillen an der Basalmembran. Ab und zu sah ich sie aber auch die Basalmembran durchziehen und in Bündeln oder auch einzeln auf der andern Seite wieder aus ihr heraustreten. Ihren weiteren Verlauf konnte ich nicht feststellen.

Auf Fig. 37 und 38, Taf. XXII, ist je ein Stück der Basalmembran gezeichnet, die nach unten in das schon erwähnte Bindegewebe übergeht. In Fig. 37 treten die dunklen Fibrillen in die Basalmembran ein, in der sie, wenn auch sehr blaß gefärbt, doch deutlich zu verfolgen sind, bis sie auf der andern Seite scharf und dunkel wieder hervortreten. Fig. 38 zeigt ein ähnliches Bild. (Die dunklen Stellen auf der Figur entsprechen Muskelquerschnitten.)

Ganz ähnlichen Verhältnissen in bezug auf die Fibrillen begegnen wir im Hautepithel von *Spirographis*, nur erscheinen die einzelnen Fäden hier besonders dick. Dies zeigt Fig. 20, Taf. XXI, welche das Hautepithel mit der darunter befindlichen Ringmuskulatur wiedergibt. Ich habe mich mit der Feststellung von Fibrillen in der Zelle selbst begnügt.

Ein günstiges Objekt für meine Untersuchungen bot sich mir ferner in *Hesione sicula:* die Fibrillen sind so massenhaft vorhanden, daß fast die ganze Zelle von ihnen ausgefüllt ist. Sie erscheinen im Epithel oft zerrissen und umgebogen. Auf Fig. 21, Taf. XXI, habe ich einen Sagittalschnitt durch das Hautepithel von *Hesione* mit den Fibrillen dargestellt. Unterhalb desselben kann man sie in die Ringmuskelsepten hineinziehen sehen.

Endlich konnte ich auch im Hautepithel von *Nereis cultrifera* (?) die Fibrillen konstatieren. Diese Bilder sind denen vom Regenwurm wohl am ähnlichsten. Hier ist nämlich wieder besonders deutlich zu erkennen, wie ein Teil der Fibrillen sich in die unter dem Epithel befindliche Muskelschicht hinein fortsetzt. Bei der außerordentlichen Zartheit der Muskelfasern ist es mir nicht gelungen, die Fibrillen in die Muskelzellen selbst eindringen zu sehen; ich sah sie zwischen denselben verlaufen.

Morphologisch etwas andre, funktionell aber wohl ähnliche Verhältnisse haben wir schließlich noch im Epithel des sogen. Kieferträgers von *Nereis*. Dieses Organ, von welchem Fig. 30, Taf. XXII, eine Übersichtsskizze gibt, ist ein hinter dem Rüssel gelegenes Rohr, das seitlich zusammengepreßt und stark muskulös ist. Aus seinem verdickten Hinterende geht ein in der Literatur als »Übergangsteil« bezeichneter Darmabschnitt hervor, der dann erst in den eigentlichen Darm einmündet. Die Muskeln dieses Organs sind zum größten Teil zwischen der Basalmembran des Epithels und der äußeren Wand des Rohrs radial eingespannt. Innerhalb des Epithels setzen sie sich, wie aus Fig. 23, Taf. XXI, ersichtlich, durch Fasern fort, welche sich stark mit Benda färben und auf ihrem Wege zur Cuticula strahlenförmig auseinanderbiegen. Mit Muskelfasern haben wir es bei diesen Gebilden wohl nicht zu tun. Außer färberischen Unterschieden spricht der Umstand dagegen, daß sie viel feiner sind, als die derben Muskelfasern. Außerdem verlaufen sie an den Stellen, wo die Muskeln schräg ansetzen, oft nicht genau in ihrer Verlängerung, sondern biegen jenseits der Basalmembran etwas um und erreichen die Cuticula auf geradem Wege.

Zusammenfassend möchte ich wiederholen, daß ich bei *Lumbricus* im Pharynx-, Muskelmagen- und Hautepithel, bei *Spirographis* im Pharynx- und Hautepithel, bei *Hesione* und *Nereis* im Hautepithel längs verlaufende, scharf hervortretende Fibrillen konstatieren konnte. Teils inserieren diese an der Basalmembran, teils lassen sie sich durch Vermittlung des Bindegewebes in die unter dem Epithel befindlichen Muskelschichten verfolgen und treten auch ins Innere der Muskelfasern über.

II. Allgemeiner Teil.

Die physiologische Bedeutung der Fibrillen.

Was die funktionelle Bedeutung intraepithelialer Fibrillen betrifft, so sind, wie die in der Einleitung gegebene Literaturübersicht zeigt, verschiedene Erklärungsmöglichkeiten vorhanden. Auch für die Fibrillen im Pharynxepithel des Regenwurms liegt in der Literatur schon eine Erklärung vor: W. Polowzow schreibt ihnen die entscheidende Rolle bei der Schleimsecretion zu. Das Secret von Schleimdrüsen, die an der Peripherie des Pharynx liegen, von seinem inneren Epithel also durch den dicken Muskelwulst getrennt sind, soll sich in den Drüsengängen sammeln. »Dieselben,« heißt es weiter, »durchsetzen einen Teil der Muskelschicht und gesellen sich zu den hier verlaufenden mächtigen Nervenstämmen.«

Das Secret soll dann in dünnen Fäden innerhalb der Nervenstämme, zwischen den Nervenscheiden (!) ins Epithel eintreten. Hier soll es sich dann zwischen den Zellen klumpenförmig ansammeln und durch die Kontraktion der muskulösen Fibrillen ins Pharynxlumen ausgestoßen werden.

Diese Deutung ist unmöglich. Wenn die Fibrillen überhaupt mit der Schleimsecretion etwas zu tun hätten, so müßten sie vor allem im Clitellum vorhanden sein, um dort bei der Secretentleerung der großen Schleimdrüsen mitzuhelfen. Im Clitellum fehlen sie aber; die zwischen den Drüsen liegenden Muskelfasern erfüllen wohl diese Funktion. — Zellen mit starker Secretion haben wir sodann im Darmepithel. Die Darmepithelzellen sind manchmal geradezu deformiert durch peripherische, gewölbte Schleimkuppen, welche den Bürstensaum mit emporheben. Aber auch das Darmepithel besitzt keine Fibrillen. — Das gewöhnliche Hautepithel ist aber ebenfalls sehr drüsenreich, und hier finden sich die Fibrillen. Ein Zusammenhang mit der Schleimsecretion besteht aber auch im Hautepithel nicht. Das zeigen die Reizpräparate: man sieht die Schleimzellen in allen möglichen physiologischen Funktionszuständen, z. B. entleerte und auch noch ganz mit Secret erfüllte. Die Fibrillen aber, die an der Peripherie der Schleimzellen verlaufen, sind in den Reizpräparaten immer stark gedehnt, können also nicht durch etwaige Kontraktionen die Schleimzellen seitlich zusammendrücken und den Schleim herauspressen. Für kontraktil halte ich die Fibrillen überhaupt nicht, aus folgenden Gründen: Polowzow hat beobachtet, daß, wenn der Pharynx ohne Anwendung von Chloroform herauspräpariert wird, sich die unter dem Epithel gelegene Muskulatur stark kontrahiert. Auf das Epithel und die in ihm eingeschlossenen Strukturen braucht sich aber die Reizwirkung nicht auszudehnen: die Fibrillen verlaufen dann geschlängelt, zeigen also den Ruhezustand. Wenn man aber wie Polowzow die Epithelfibrillen für muskulöse Fasern hält, so scheint mir diese funktionelle Unabhängigkeit von der dicht unterhalb des Epithels gelegenen Muskulatur unverständlich. Nach meinen Beobachtungen wird das Epithel bei einer Reizung der Muskulatur immer stark in Mitleidenschaft gezogen: die Fasern werden stark gedehnt, die Länge der Zelle übertrifft die einer im Ruhezustand befindlichen um das $1^1/_2$fache. Eine aktive Verkürzung der Fibrillen durch Kontraktion habe ich nie gesehen; Querschnittsdifferenzen, wie sie z. B. bei den Stentor-Myonemen, wie bei allen kontraktilen Fasern auftreten, sind, wenn man eine geradlinige mit einer geschlängelten Fibrille vergleicht, nicht zu beobachten. Von den kontraktilen Fasern unterscheiden sich die Fibrillen auf den ersten Blick dadurch, daß sie in

kontrahierten Muskeln immer geschlängelt, oft in krausen Windungen verlaufen.

An dieser Stelle ein Wort über die Fibrillen des Kieferträgerepithels von *Nereis* (Fig. 30, Taf. XXII, 23, Taf. XXI). Auch diese halte ich nicht für kontraktil. Ich glaube vielmehr, daß hier der Muskelansatz auf indirektem Wege durch Sehnenbildung zustande kommt, wie wir dies bei Arthropoden häufig finden. Die Fibrillen sind als besondere, im Epithel selbst entstandene Fasern anzusehen. — Eine nervöse Funktion kann man den Fibrillen auch nicht zuschreiben. Bei denjenigen, welche sich büschelförmig an der Basalmembran anheften, ist das von vornherein klar. Ferner habe ich auf Schnitten, die auf der Höhe des Oberschlundganglions durch den Pharynx gemacht wurden, niemals Fibrillen in den ösophagealen Schlundring eintreten sehen, und auch im Hautmuskelschlauch fehlt jede Beziehung der Fibrillen sowohl zu den submuskulären Ringnerven als auch zu den im Hautepithel vorhandenen Sinneszellen.

Ebenso unmöglich ist es, daß die Fibrillen für die Resorption in Betracht kommen, also etwa Leitungsbahnen für flüssige Nährstoffe darstellen könnten. In der Literatur wird zuweilen faserigen Differenzierungen der Zelle eine solche Funktion zugesprochen; Engelmann z. B. hat die Hauptaufgabe der Anodonta-Flimmerkegel in der Ernährung der Cilien gesehen. In meinem Fall ist eine solche Deutung aber unmöglich. Mit der Ernährung der Cilien können die Fibrillen nichts zu tun haben, da sie mit diesen in keinem Zusammenhang stehen. Im Pharynx können sie überhaupt für die Resorption nicht in Betracht kommen, da im Pharynx ja nicht resorbiert wird. Im Darm sind aber keine Fibrillen vorhanden.

So bleibt schließlich nur noch die Auffassung übrig, daß die Fibrillen der Klasse der Stützstrukturen zugerechnet werden müssen, von welchen, wie schon erwähnt, in den letzten Jahren durch Koltzoff und Goldschmidt eine Reihe bekannt geworden sind. Ein besonders charakteristisches, meinem Fall nicht unähnliches Beispiel haben wir durch Koltzoff in den Flimmerepithelien des Mantelrandes von Pteropoden kennen gelernt. Es handelt sich da um ein intracelluläres System von Stützfasern. »Sie nehmen innerhalb der Epithelzellen ihren Anfang, laufen in der Richtung zur unteren Fläche und verästeln sich wie Wurzeln auf derselben an der Berührungsfläche dieser Epithelzelle mit den Verästelungen der darunter liegenden Bindegewebzelle.«

Auch in meinem Fall handelt es sich bei denjenigen Fibrillen, die an der Basalmembran entspringen, wohl jedenfalls um elastische Stützstrukturen, die zur Festigung des Epithels bei mechanischer Beanspru-

chung dienen. Besonders da, wo die Muskeln radial am Epithel ansetzen, also im Pharynx, kann man sich gut vorstellen, daß ihre Zugwirkung einen Gegenzug in den elastischen, gespannten Fibrillen auslösen muß, wodurch das Epithel vor zu starker Zerrung bewahrt wird. Sehr deutlich tritt diese elastische Spannung der Fibrillen in den Tetanuspräparaten hervor (Fig. 8, 9, 10, Taf. XX). Hört die Zugspannung auf, so werden die gedehnten Fibrillen vermöge ihrer Elastizität, die sich vielleicht am besten mit der Elastizität gespannter Uhrfedern vergleichen ließe, wieder zurückschnellen und dem Epithel seine frühere Form zurückgeben. In der Ruhelage sind die Fibrillen dann wieder leicht spiralfederartig aufgerollt.

Aber auch bei seitlicher Pressung, wie sie bei stark secernierenden Epithelien (Hautepithel von Würmern) schon an und für sich, und erst recht bei Epithelien mit kräftiger muskulöser Unterlage nicht ausbleiben kann, werden es wohl hauptsächlich die Fibrillen sein, die den Zellen die Beibehaltung ihrer äußeren Form gewährleisten. In den Hautepithelien der Würmer wird bei der großen Kontraktilität der Tiere wohl meist ein mehr oder minder starker Seitendruck vorhanden sein, daher der gestreckte Verlauf der Fibrillen im Hautepithel. Aber auch innerhalb der Epithelzellen selbst können leicht Verschiebungen eintreten. Denn eine Epithelzelle kann ja die verschiedensten Funktionen haben; sie kann der Secretion, der Resorption, dem Schutze, dem Abschluß gegen Oberflächen dienen, die Aufnahme von Sinneseindrücken vermitteln, als Stützorgan von Sinneszellen auftreten. Ein intracellulärer Stützapparat kann sie bei diesen verschiedenen Aufgaben nur unterstützen.

Möglicherweise könnten die Fibrillen ursprünglich als Stützorgan in den Epithelzellen entstanden sein und dann sekundär Anschluß an die Muskulatur gefunden haben. Denn wo sie durch die Basalmembran hindurch zwischen und in die Muskelfasern eindringen, lassen sie sich auch am besten als Skelettstrukturen verstehen. Es liegt hier wohl ein analoger Fall zu dem von Goldschmidt bei den *Ascaris*-Muskelzellen beschriebenen vor. Wie dort tragen die Fibrillen zur Befestigung der Muskelschichten am Epithel bei. Sie stellen ferner die elastische Gegenkraft zur kontraktilen Muskelkraft dar, dem Ruhestadium der elastischen Faser entspricht das Arbeitsstadium des Muskels. Daher der gewellte Verlauf der elastischen, zusammengedrückten Fibrille innerhalb der kontrahierten Muskelfaser.

Zum Schluß möchte ich noch eine Beobachtung erwähnen, die zwar mit meinem eigentlichen Thema nicht direkt in Verbindung steht, aber doch vielleicht einiges Interesse verdient. Im Flimmerepithel des Pharynx vom *Spirographis*, ebenso wie in dem von *Lumbricus* sind mir zahlreiche

Mitosen zu Gesicht gekommen. Sie lagen stets dicht unter dem Flimmerapparat. In Fig. 39, Taf. XXII, ist eine Mitose aus dem Pharynxepithel des Regenwurms, in Fig. 40 und 41 sind zwei von *Spirographis* gezeichnet. Die Chromosomen haben die Gestalt kurzer, gebogener Stäbchen. In bezug auf die Richtung der Spindeln — fast immer ungefähr parallel der Zelloberfläche — stimme ich mit den Beobachtungen Erhards und Wallengrens überein. Wallengren, der in den Flimmerzellen des Kiemenepithels von Najaden Mitosen gefunden hat, sagt darüber: »Nur sehr selten nahm die Kernspindel eine schräge Stellung ein, und nur zweimal habe ich eine senkrechte Orientierung beobachtet. Auch bei diesem Epithelium kann die mit der Oberfläche parallele Stellung als Regel gelten, und infolgedessen geht die Teilungsebene gewöhnlich senkrecht zur Oberfläche, sodaß die beiden Schwesterzellen Seite zu Seite und auf derselben Höhe im Epithel zu liegen kommen.« Auch eine Aufhellung des Plasmas, von der Wallengren spricht, und ein starkes Aufquellen der sich teilenden Zellen bis zu ihrer fast völligen Abkugelung habe ich bei meinem Objekt immer beobachtet; der starke Turgor in der sich teilenden Zelle läßt sie dabei wohl den Seitendruck überwinden. Das Centrosom war meist nicht sehr deutlich zu erkennen; jedenfalls kann ich über eventuelle Beziehungen desselben zu den Basalkörnern nichts aussagen. Was die Auflösung des Flimmerapparates in den sich teilenden Zellen betrifft — hierüber bestehen Meinungsverschiedenheiten — so scheint er mir in der Prophase noch erhalten. Aber auch in dem Stadium der Äquatorialplatte schien er mir in den allerdings nicht häufig beobachteten Fällen, wo die Zellen genau längs getroffen waren, noch fortzubestehen. Auf Fig. 41, Taf. XXII, ist der Flimmerapparat mit den Basalkörpern von der sich teilenden Zelle abgehoben; das hat aber wohl mit der Resorption des Flimmerapparates nichts zu tun. Die Fibrillen werden in den Flimmerzellen, die sich teilen, wohl eingeschmolzen. Ein eigentümliches Gebilde in Gestalt eines stark färbbaren, fast zum Ring gekrümmten Stabes, der sich am unteren Rande der Zelle noch verbreitert, zeigt Fig. 41.

Zum Schlusse möchte ich meinen verehrten Lehrern, Herrn Geheimrat Prof. Dr. v. Hertwig, in dessen Institut die vorliegenden Untersuchungen ausgeführt wurden, und Herrn Prof. Dr. Goldschmidt für ihr liebenswürdiges Entgegenkommen und stetes Interesse an meinen Studien meinen herzlichsten Dank sagen. Prof. Goldschmidt habe ich für die Anregung zu dieser Arbeit und seine Leitung derselben, sowie für viele wertvolle Ratschläge noch besonders zu danken.

Literaturverzeichnis.

Apathy, St. 1897. Das leitende Element des Nervensystems usw. Mitteilg. a. d. Zoolog. Station Neapel. Bd. XII.

—— 1893. Über die Muskelfasern von Ascaris nebst Bemerkungen über die von Lumbricus und Hirudo. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Nr. 10.

Beddard, F. E. 1895. A monograph of the order of Oligochaeta. Oxford.

—— 1884. The structure of the body-wall in certain earth-worms. Proceed. of the Royal Physic. Soc. in Edinb.

Benda, K. 1912. Die Mitochondria. Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch. Bd. XII.

Cerfontaine, P. 1890. Recherches sur le système cutané et sur le système musculaire du lombrice terrestre. Arch. Biol. T. X.

Claparède, A. R. E. 1873. Recherches sur la structure des annélides sédentaires.

Ehlers, E. 1864—68. Die Borstenwürmer. Leipzig.

Engelmann, Th. W. 1880. Zur Anatomie und Physiologie der Flimmerzellen. Pflügers Arch. Bd. XXIII.

Erhard, H. 1909. Studien über Flimmerzellen. Arch. f. Zellforschung.

Goldschmidt, R. 1904. Der Chromidialapparat lebhafter funktionierender Gewebszellen. Zool. Jahrb. (An.). Bd. XXI.

—— 1906. Mitteil. zur Histologie von Ascaris. Zool. Anz. Bd. XXIX.

—— 1909. Das Skelet der Muskelzelle von Ascaris usw. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV.

—— Das Nervensystem von Ascaris lumbricoides und megalocephala. III. Festschr. f. Richard Hertwig. Jena.

Grobben, K. 1911. Die Bindesubstanzen von Argulus. Wien.

Gurwitsch, A. 1904. Morphologie und Biologie der Zelle. Jena.

Heidenhain, M. 1899. Struktur der Darmepithelzellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LIV.

—— Beiträge zur Aufklärung des wahren Wesens faserförmiger Differenzierungen. Anat. Anz. Bd. XVI.

—— 1902. Das Protoplasma und die kontraktilen fibrillären Strukturen. Anat. Anz. Bd. XXI.

—— 1911. Plasma und Zelle. 2. Lieferung. Jena.

Hertwig, R. 1898. Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung bei Actinosphaerium Eichhorni. Abh. bayr. Akad. Wiss. Bd. XIX.

Holmgren, E. 1905. Zur Kenntnis der cylindrischen Epithelzellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXV.

Kasakoff, W. 1912. Zur Frage von dem Bau des Mitteldarmes von Erinaceus europaeus. Anat. Anz. Bd. XLI.

Koltzoff, N. 1906. Studien über die Gestalt des Zelle. I. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXVII.

—— 1908. Studien über die Gestalt der Zelle. II. Arch. f. Zellforsch. Bd. II.

—— 1911. Studien über die Gestalt der Zelle. III. Arch. f. Zellforsch. Bd. VII.

Korotneff, A. 1909. Mitochondrien, Chondriomiten und Faserepithel der Tricladen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXIV.

Lundahl, G. 1908. Beitrag zur Kenntnis der sogenannten Grenzfibrillen der Epithelzellen. Anat. Hefte. Bd. XXXVII.

METALNIKOFF, S. 1900. Sipunculus nudus. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXVIII.
MEVES, F. 1907. Über Mitochondrien bzw. Chondriokonten in den Zellen junger Embryonen. Anat. Anz. Bd. XXXI.
—— 1910. Über Strukturen in embryonalen Stützgewebezellen und die Entstehung von Bindegewebsfibrillen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXV.
POLOWZOW, W. 1904. Über kontraktile Fasern in einer Flimmerzellenart und ihre funktionelle Bedeutung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXIII.
ROHDE, E. 1885. Die Muskulatur der Chätopoden. Zool. Beitr. v. A. SCHNEIDER. Bd. I.
ROUX, W. 1895. Gesammelte Abhandlungen. Leipzig.
SCHNEIDER, K. C. 1902. Lehrbuch der vergl. Histologie der Tiere.
SNETHLAGE, E. 1905. Über die Frage von Muskelansatz und der Herkunft der Muskulatur bei Arthropoden. Zool. Jahrb. (Anat.). Bd. XXI.
VEJDOVSKY, F. 1884. System und Morphologie der Oligochäten. Prag.
WALLENGREN, H. 1905. Zur Kenntnis der Flimmerzellen. Zeitschr. f. allgem. Physiol. Bd. V.

Tafelerklärung.

Sämtliche Abbildungen sind mit ABBEschem Zeichenapparat hergestellt.

Tafel XX.

Sämtliche Bilder nach BENDA-Färbung.

Fig. 1. Querschnitt durch das Pharynxepithel des Regenwurms auf der Muskelwulstseite mit geschlängelten Fibrillen. Imm. 2 mm; Oc. 1.

Fig. 2. Frontalschnitt durch den Pharynx: zeigt das verästelte Bindegewebe unterhalb des Epithels mit Kernen und angeschnittenen Fibrillen. Imm. 2 mm; Oc. 1.

Fig. 3. Schrägschnitt durch das Pharynxepithel. Bindegewebe ins Epithel übergehend. Fibrillen. Imm. 2 mm; Oc. 1.

Fig. 4. Muskelfasern aus dem Pharynx des Regenwurms, mit axialen Fibrillen. Imm. 2 mm; Komp.-Oc. 4.

Fig. 5. Desgleichen. Imm. 2 mm; Komp.-Oc. 4.

Fig. 6. Muskelfasern mit oberflächlich verlaufenden Fibrillen. Imm. 2 mm; Komp.-Oc. 4.

Fig. 7. Sagittalschnitt durch die Körperwand. Epidermis und Ringmuskulatur. Fibrillen im Epithel und Bindegewebe unterhalb der Basalmembran. Imm. 2 mm; Oc. 1.

Fig. 8. Querschnitt durch die Körperwand. Reizpräparat. Epithel durch die Fibrillen stark gedehnt. Durchtretende Fibrillen. Imm. 2 mm; Oc. 1.

Fig. 9. Hautepithel. Reizpräparat. b = Bakteroiden. Imm. 2 mm; Oc. 1.

Fig. 10. Querschnitt durch das gedehnte Pharynxepithel mit den Fibrillen. Reizpräparat. Muskelanschnitte und Bindegewebe unterhalb des Epithels. Imm. 2 mm; Oc. 1.

Fig. 11. Sagittalschnitt durch die Leibeswand. Reizpräparat. Fibrillen durch die Ringmuskulatur durchtretend. Imm. 2 mm; Oc. 1.

Fig. 12. Querschnitt durch die Leibeswand, Übersichtsbild. Die Fibrillen in Epidermis, Ring- Längsmuskulatur. LEITZ' Obj. 3; Oc. 3.

Tafel XXI.

Sämtliche Bilder nach Benda-Färbung.

Fig. 13. Bindegewebspartie zwischen Ring- (oben) und Längsmuskelschicht (unten) aus dem Hautmuskelschlauch von *Lumbricus*. Geschlängelte Fibrille im Bindegewebe, andre dasselbe quer durchsetzend. Imm. 2 mm; Oc. 1.

Fig. 14. Epidermis von *Lumbricus*. Fibrille unterhalb der Basalmembran im Bindegewebe des Muskels. Leitz' Obj. 7; Oc. 1.

Fig. 15. Muskelquerschnitte aus der Längsmuskelschicht der Haut von *Lumbricus*. Eine Fibrille tritt in eine Muskelzelle ein und spaltet sich innerhalb derselben. Imm. 2 mm; Komp.-Oc. 8.

Fig. 16. Desgleichen. Imm. 2 mm; Komp.-Oc. 8.

Fig. 17. Aus der Längsmuskelschicht der Haut. Fibrillen verlaufen zwischen den quergetroffenen Muskelzellen. Imm. 2 mm; Komp.-Oc. 4.

Fig. 18. Aus der Ringmuskelschicht des Muskelmagens. Fibrille sich verzweigend zwischen den Querschnitten der Muskelzellen. Links Bindegewebsseptum zwischen zwei Muskelbündeln. Imm. 2 mm; Komp.-Oc. 4.

Fig. 19. Querschnitt durch den Pharynx von *Spirographis Spallanzanii*. Zellen mit Secretkörnern gefüllt. Fibrillen. *b* = verzweigtes Bindegewebe. Imm. 2 mm; Oc. 1.

Fig. 20. Hautepithel von *Spirographis*. Fibrillen. Imm. 2 mm; Oc. 1.

Fig. 21. Hautepithel von *Hesione sicula*. Sagittalschnitt. Fibrillen in die Bindegewebssepten hineinziehend. Leitz' Obj. 7; Oc. 1.

Fig. 22. Hautepithel von *Nereis cultrifera*. Fibrillen durch die Basalmembran und zwischen die Muskeln tretend. Imm. 2 mm; Komp.-Oc. 4.

Fig. 23. Ein Stück des Epithels aus dem Darmtractus von *Nereis cultrifera*. Radial zutretende Muskelbündel, Sehnenbildung im Epithel.

Tafel XXII.

Eisenhämatoxylinfärbung.

Fig. 24. Pharynxepithel des Regenwurms auf der ventralen Seite. Keine Fibrillen. Imm. 2 mm; Oc. 1.

Fig. 25. Frontalschnitt durch den Pharynx unterhalb des Epithels. Die Figur zeigt Bindegewebsstränge (*a*, im Querschnitt getroffen), Muskelfasern (*b*), Blutgefäße (*c*). Imm. 2 mm; Oc. 1.

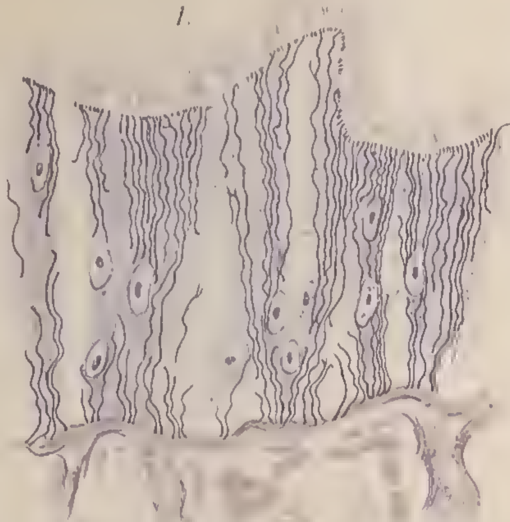
Fig. 26. Flächenschnitt durch den Pharynx, gleiche Stelle wie Taf. XX, Fig. 2, bei etwas höherer Einstellung. Muskelfasern überschneiden gitterartig das verzweigte Bindegewebe. Imm. 2 mm; Oc. 1.

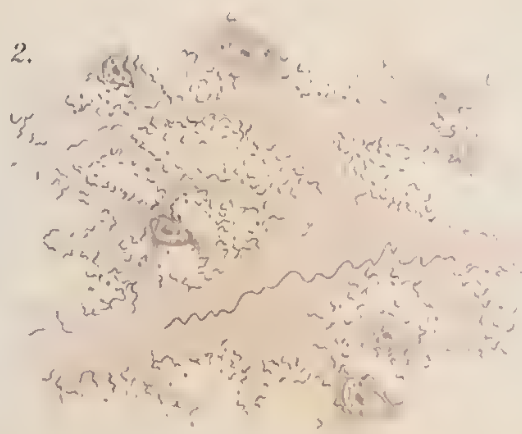
Fig. 27. Querschnitt durch die Oberfläche des Flimmerepithels vom Pharynx. Die großen Punkte sind die Querschnitte der Fibrillen, die kleinen die der Cilien. Imm. 2 mm; Komp.-Oc. 6.

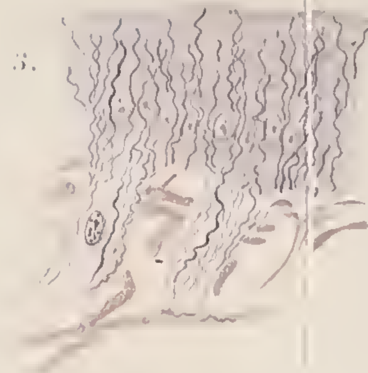
Fig. 28. Querschnitt durch das Pharynxepithel auf der Höhe der Kerne. Imm. 2 mm; Komp.-Oc. 6.

Fig. 29. Sagittalschnitt durch den Hautmuskelschlauch. Die Figur zeigt das die Ringmuskelfasern umhüllende Bindegewebe. *e* = Epithel; *m* = Muskelquerschnitte; *b* = Bindegewebe. Heidenhain-Eosin. Leitz' Obj. 7, Oc. 1.

Fig. 30. Aus dem Darmtractus von *Nereis cultrifera*. Übersichtsbild. Leitz' Obj. 2; Oc. 3.



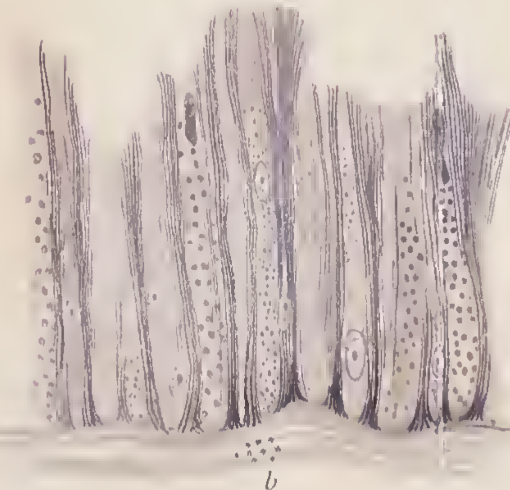




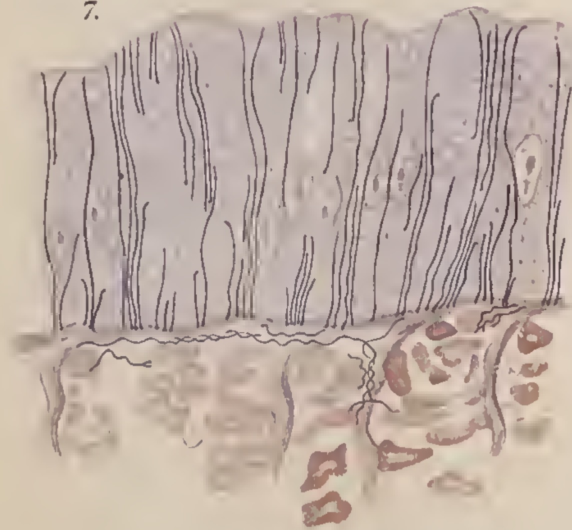


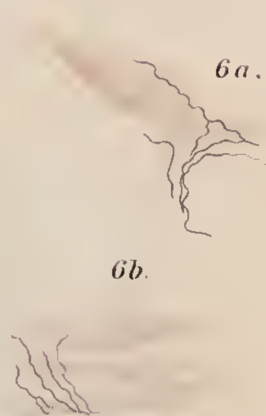


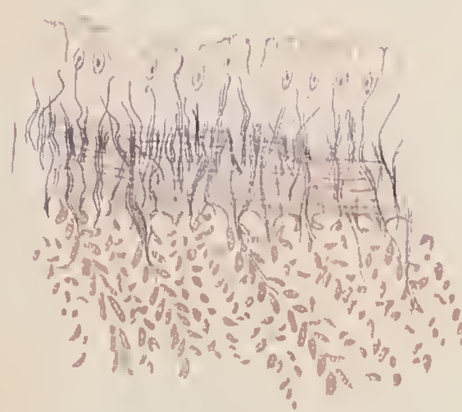


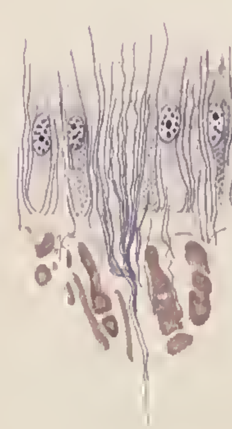






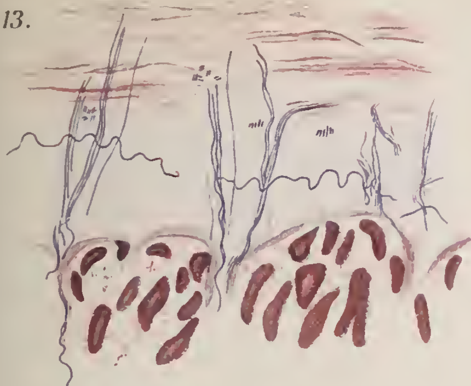


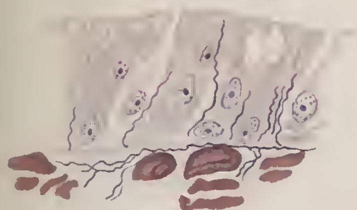


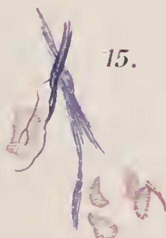


Verlag v. Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin

Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig













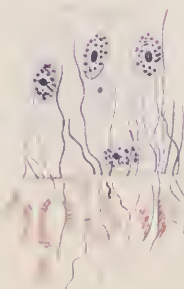


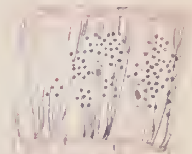
19.

b



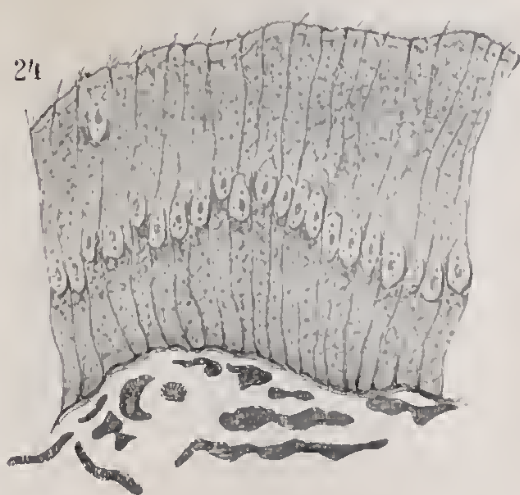




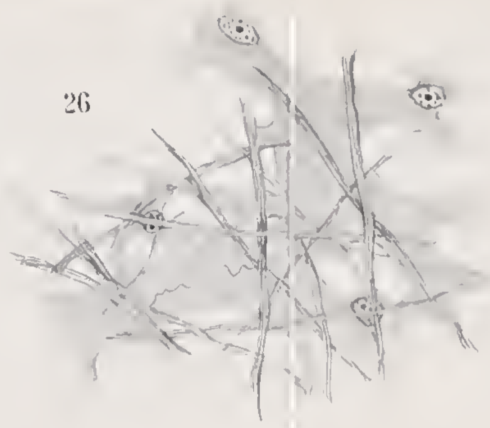


Verlag v Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin

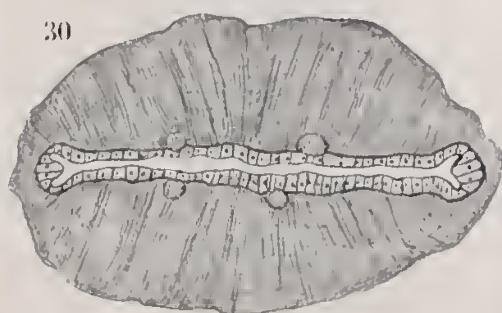
Lith. Anst. v. E. A. Funke Leipzig


24


25
c
c
a
b

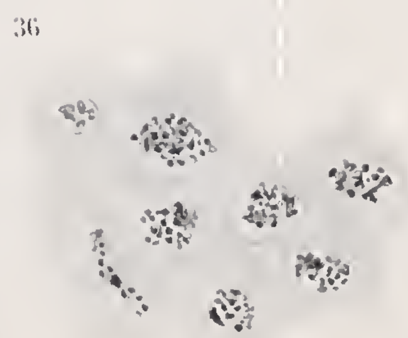

26

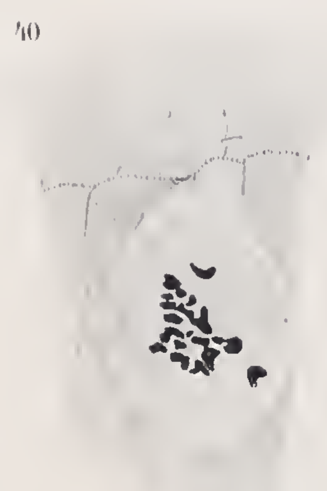

39


30


29
c
m
b


27

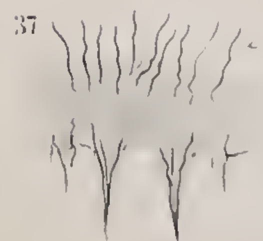

36

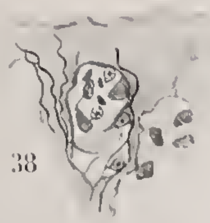

40


31


28


35


37


38


32


33


34


41

Fig. 31. Vier Zellen aus dem Hautepithel des Regenwurms, im Längsschnitt. Die Fibrillen reichen bis zur Zelloberfläche. Imm. 2 mm; Komp.-Oc. 8.

Fig. 32. Gefaltete und durch die Fibrillen vorgebuchtete Oberfläche des Hautepithels des Regenwurms. Reizpräparat. Imm. 2 mm; Oc. 1.

Fig. 33. Querschnitt durch das Hautepithel von *Hesione sicula*. Imm. 2 mm; Komp.-Oc. 6.

Fig. 34. Vier Zellen aus dem Epithel des Muskelmagens von *Lumbricus*. Fibrillen und Cilien. Imm. 2 mm; Komp.-Oc. 8.

Fig. 35. Flimmerzellen aus dem Pharynxepithel von *Spirographis*. Imm. 2 mm; Komp.-Oc. 8.

Fig. 36. Ein Stück des gefensterten Bindegewebes unterhalb des Epithels aus dem Pharynx von *Spirographis*. Leitz' Obj. ?; Oc. 1.

Fig. 37. Ein Stück der Basalmembran des Pharynxepithels von *Spirographis* mit aus dem Epithel (*e*) kommenden Fibrillen. Imm. 2 mm; Oc. 1.

Fig. 38. Desgleichen. Fibrillen in Bindegewebe und Basalmembran. Imm. 2 mm; Oc. 1.

Fig. 39. Mitose in einer Flimmerzelle aus dem Pharynx des Regenwurms. Imm. 2 mm; Komp.-Oc. 8.

Fig. 40. Mitose in einer Flimmerzelle des Pharynx von *Spirographis*. Äquatorialplatte. Wimperapparat noch nicht resorbiert. Imm. 2 mm; Komp.-Oc. 8.

Fig. 41. Desgleichen; Cilien mit Basalkörpern abgehoben. Imm. 2 mm; Komp.-Oc. 8.



Referate.

E. B. Wilson, Studies on chromosomes. VIII. Observations on the maturation-phenomena in certain Hemiptera and other forms, with considerations on synapsis and reduction. In: Journal of Exper. Zool. Vol. XIII. 9 Tafeln. p. 345—431. 1912.

Die vorliegenden äußerst sorgfältig durchgeführte Chromosomenstudie Wilsons, gleichzeitig eine Auseinandersetzung mit den heiß umstrittensten Fragen der Cytologie erfordert eine eingehende Besprechung. Untersucht wurden die Spermatogenesen von *Lygäus bicrucis* und *Oncopeltus fasciatus*, sowie vergleichsweise *Protenor*, *Inax Largus* u. a., ferner Originalpräparate Janssens und Schreiners von *Batrachoceps* und *Tomopteris.* — *Oncopeltus* und *Lygäus* unterscheiden sich außer der Chromosomenzahl (*Oncopeltus* = 16, *Lygäus* = 14) in den Größenverhältnissen der X- u. Y-Chromosomen. Während bei *Lygäus* typische Größendifferenzen zwischen beiden stets nachweisbar sind, verhält sich *Oncopeltus* in dieser Hinsicht wechselnd. So fand Wilson bei einem Tier in der Wachstumsperiode — in der die X- und Y-Chromosomen, der Regel entsprechend, stets deutlich sichtbar sind — und in den Reifeteilungen in etwa 83% keine Größenunterschiede, bei einem andern Tier dagegen in dem gleichen Stadium in etwa 90% (Wilson gibt für die einzelnen Stadien genaue Zahlen) deutliche Größendifferenzen, so daß *Oncopeltus* etwa als erstes Glied der Reihe von Hemipteren zu betrachten ist, in der äußerlich sichtbare Differenzen der X- und Y-Chromosomen auftreten (*Oncopeltus* — *Nezara* — *Lygäus*). Die Tatsache, daß so beträchtliche Größendifferenzen der X- und Y-Chromosomen bei ein und derselben Art, wenn auch bei verschiedenen Individuen vorkommen, weist darauf hin, daß wir uns auch in dieser Richtung mit dem Begriff der Variationsbreite vertraut machen müssen, daß es auch bei den Chromosomengrößen Plus- und Minusabweicher vom Mittelwert gibt und daß daher Vorsicht in der Beurteilung solcher Größendifferenzen geboten ist. — Wilson bespricht nun zunächst die Reifeteilungen. Bei beiden Formen erscheinen in den Prophasen I die Autosomen als bivalente Elemente in der reduzierten Zahl (sieben bei *Oncopeltus*, sechs bei *Lygäus*), während die X- und Y-Chromosomen noch getrennt sind und meistens in der Mitte eines von den Autosomen gebildeten Ringes liegen. Die I. Reifeteilung verläuft für die Autosomen reduktionell, während die beiden X- und Y-Chromosomen gemäß einem — bei *Lygäus* schon im Pachynema hervorgetretenen! — Längsspalt äquationell geteilt werden. In der Anaphase der I. Reifeteilung erfolgt nun die Konjugation der X- und Y-Chromosomen, wobei man wegen der Kugelgestalt beider nicht entscheiden kann, ob Meta- oder Parasyndese vorliegt. Die II. Reifeteilung folgt auf die I. ohne Bildung eines Ruhekerns und trennt nunmehr das bivalente X — Y-Paar reduktionell, während die Autosomen äquationell geteilt werden. — Ein besonders eingehendes Studium hat Wilson der Wachstumsperiode gewidmet.

Auf die letzte Spermatogonientelophase, in der die Geschlechtschromosomen sich von den Autosomen noch nicht unterscheiden lassen, folgt ein — früher von Wilson übersehenes — Stadium, das große Ähnlichkeit hat mit dem von Botanikern (Overton 05, 09) als Stadium der »Prochromosomen« bezeichneten. (Vgl. hierzu auch die Abbildungen Wassilieffs aus der Spermatogenese von *Blatta* [07]!) Es treten massige Chromatinblöcke anscheinend in der Normalzahl auf, die aber sehr bald die Form feinster Spiralen annehmen. Auf diesem Stadium treten die beiden X- und Y-Chromosomen zuerst deutlich in Erscheinung als zwei während der ganzen folgenden Periode kompakt bleibende »Chromatinnucleoli«. Die anfangs dicht gewickelten Spiralen der Autosomen entwirren sich allmählich und nehmen die Form dünnfädiger, annähernd in Normalzahl vorhandener leptotäner Schleifen an. Wilson erachtet es als sicher — im Gegensatz zu den Angaben Brunellis (10) für *Tryxalis*, Schneiders (10) für Amphibien und Déhornes (11) für *Sabellaria* und *Fasciola* — daß die einzeln und ungeteilt erscheinenden Schleifen aus je einem der Chromatinblöcke entstehen. Namentlich zeigen die Originalpräparate McClungs von *Phrynotettix* mit völliger Sicherheit, daß von einer Duplizität der Spiralen keine Rede sein kann, daß vielmehr jede Spirale einem Spermatogienchromosom entspricht. Ein kontinuierliches Spirem liegt also hier keinesfalls vor, obgleich ein solches manchmal dadurch vorgetäuscht werden kann, daß die einzelnen Schleifen durch feine Lininbrücken miteinander in Verbindung stehen! Irgendeine Andeutung eines Längsspaltes der Schleifen ist auf diesem Stadium ebensowenig zu erkennen, wie eine polare Orientierung derselben. — Die Synapsis im engeren Sinn (»Synezisis«) bereitet der Analyse erhebliche Schwierigkeiten. Obgleich eine so starke einseitige Kontraktion der Schleifen, wie sie seitens der Grégoireschen Schule wiederholt beobachtet wurde, sich bei *Oncopeltus* und *Lygäus* nicht findet, ja die Kontraktion sich nach den beigegebenen Figuren und Mikrophotogrammen in minimalen Grenzen bewegen muß, ist Wilson überzeugt, daß die kurz darauf festzustellende Pseudoreduktion der Chromosomen auf eine paarweise Konjugation während der »Synezisis« zurückzuführen ist. Wilson hält es für äußerst wahrscheinlich, daß es sich dabei um eine Parasyndese handelt, denn auf dem pachytänen Stadium — auf dem die polare Orientierung der Schleifen deutlicher wird — ist deutlich die haploide Zahl dicker, längsgespaltener Schleifen vorhanden. Freilich kann es sich hierbei nur um einen Analogieschluß unter Berücksichtigung der Verhältnisse bei *Batrachoceps* und *Tomopteris* handeln, denn gerade der Umstand, daß bei *Lygäus* das zweifellos univalente X-Chromosom bereits auf dem pachytänen, besonders deutlich aber auf dem folgenden diplotänen Stadium deutlich längsgespalten ist, gibt sehr zu denken. Die Reifeteilungen zeigen allerdings das prinzipiell differente Verhalten von Autosomen und Geschlechtschromosomen und so ist es wohl möglich, daß der Längsspalt der Autosomen im *Pachynema* tatsächlich einer Konjugationsebene entspricht; daß es sich aber auch um einen echten Längsspalt handeln kann, lehrt eben das Verhalten des X-Chromosoms bei *Lygäus*. — Das pachytäne Stadium geht über ein diplotänes in das »diffuse« Stadium über, wo mit Ausnahme der X- und Y-Elemente die Chromosomen undeutlich werden. — Bei der Ausbildung der Prophasenchromosome treten die bekannten 8-, V- und zopfförmigen und Überkreuzungsfiguren der verschiedensten Form auf, die sich dann aber mehr und mehr kontrahieren, um schließlich zu den bivalenten »hantelförmigen« Elementen der späten Prophasen und frühen Metaphasen I zu werden. Obgleich Wilson es selbst für recht schwierig hält, die große Mannigfaltigkeit der Prophasenformen auf die Elemente des diplotänen Stadiums zurückzuführen und damit zu entscheiden, wie die beiden Reifeteilungen für die Autosomen zu deuten sind, so hält

er es in Übereinstimmung mit der GRÉGOIREschen Schule doch für das Wahrscheinlichste, daß die I. Reifeteilung für die Autosomen reduktionell verläuft, die II. äquationell. Zwingend ist dieser Schluß freilich nicht. Für die X- und Y-Chromosomen liegen dagegen die Verhältnisse überaus klar, da ihre Geschichte von den frühen leptotänen Stadien bis zur vollendeten II. Reifeteilung offen zutage liegt und nirgends eine Unterbrechung ihrer morphologischen Individualität eintritt. Hier kann kein Zweifel sein, daß die I. Reifeteilung äquationell, die II. reduktionell verläuft. Ob genügend Indizien für die Annahme vorliegen, daß die Autosomen gegenüber den Geschlechtschromosomen ein durchaus abweichendes Verhalten zeigen, muß trotz allem noch fraglich erscheinen. Faßt man die Vereinigung der X- und Y-Chromosomen in der Anaphase I als Parasyndese auf, was ja ihre annähernd kugelförmige Gestalt möglich macht, so würden sich Autosomen und Geschlechtschromosomen bezüglich der Konjugation nur dadurch unterscheiden, daß erstere die Bindung sehr früh, letztere sehr spät durchführen. Ungeklärt bleibt aber die Duplizität des univalenten X-Chromosoms im pachydiplotänen Stadium bei *Lygäus*, die man zunächst noch als vereinzelte Besonderheit gelten lassen kann. Sollten aber weitere Untersuchungen diese Sonderstellung erschüttern — DAVIS (08) beschrieb bereits einen ähnlichen Fall bei Acridiern und MONTGOMERY (05) bei *Syrbula* und *Lycosa*! — dann läge gar kein Grund mehr vor, die Duplizität der Autosomen im pachy- diplotänen Stadium als Parasyndese, die der Geschlechtschromosomen dagegen als Längsspalt zu deuten. —

Der zweite Teil der Untersuchung ist einer kritischen Betrachtung der Reifungserscheinungen gewidmet. Nach genauem Studium der SCHREINERschen und JANSSENschen Originalpräparate kommt WILSON zu der Überzeugung, daß die Angaben dieser Autoren in allen Punkten zu Recht bestehen. Im besonderen, daß: 1. in dem Maße, wie die feinen leptotänen Schleifen verschwinden, dicke, häufig längsgespaltene Schleifen entstehen, die vielfach noch an den Enden klaffen (die bekannten Y-förmigen Bilder); 2. nie mehr als zwei dünne Fäden mit einem dicken in Konnex stehen; 3. diese Bilder unmöglich als der Ausdruck eines Längsspaltes gedeutet werden können; 4. diese Bilder sich scharf von den Prophasen in somatischen Kernen unterscheiden; 5. es sich tatsächlich hier um Parasyndese handelt. Trotzdem hält WILSON es für durchaus möglich, daß anderwärts auch Metasyndese vorkommt, ja er hält es mit Rücksicht gerade auf die Y-förmigen Bilder SCHREINERS und JANSSENS im Anschluß an GATES nicht für angängig, eine scharfe Grenze zwischen Para- und Metasyndese zu ziehen. — Die Frage nach der Realität der synaptischen Kontraktion hält WILSON damit für entschieden, daß SARGENT, OVERTON, BERGLAS, ÖTTINGER und WILSON selbst die »Synezisis« in sicher lebenden Zellen beobachtet haben. — Was die Frage nach dem Vorkommen echter Reduktionsteilungen betrifft, so hält WILSON eine solche für die Geschlechtschromosomen als erwiesen. Dagegen neigt er bezüglich der Autosomen — auch für *Tomopteris* und *Batrachoceps* — zu der Ansicht, daß je nach der Innigkeit des Konjugationsprozesses sei es für ganze Chromosomen, sei es nur für einzelne Teile »Mixochromosomen« entstehen können und daß dementsprechend in solchen Fällen von einer echten Reduktionsteilung nicht mehr die Rede sein könne. Im Gegensatz zu VEJDOWSKY, BONNEVIE u. a. sieht WILSON indessen in den heterotypischen Mitosen der Reifeteilungen etwas für diese durchaus Charakteristisches, das in auffallendem Kontrast zu somatischen Mitosen steht. — Schließlich beschäftigt sich WILSON noch mit der Frage, in welchem Sinne wir von Chromosomen als »Träger« der Arteigenschaften sprechen können. Die Chromosomen sind den »Seitenketten« oder molekularen »Bausteinen« eines komplexen Eiweißkörpers zu vergleichen. Ein solches Protein ist nicht eine Resultante, ein Ge-

misch der Eigenschaften der verschiedenen molekularen Bausteine, sondern je nach Wegnahme oder Zufügung oder Änderung auch nur einer einzigen »Seitenkette« entstehen ganz neue Eigenschaften des betreffenden Proteins, die nicht charakterisiert werden können durch einen einfachen Ausdruck wie etwa durch: Summe sämtlicher Charaktere ∓ Charakter der »Seitenkette«. Ebensowenig wie in diesem Beispiel die einzelnen molekularen »Bausteine« als »Träger« der Eigenschaften des betreffenden Proteins bezeichnet werden können, ebensowenig ist es angängig, sich die »Faktoren« oder »Bestimmer« als autonom sich fortpflanzende »Pangene« oder »Biophoren« oder dergleichen vorzustellen. Das Beispiel vom komplexen Protein zeigt, daß Wegnahme, Zufügung oder Änderung eines »Faktors« nicht unabhängig von den übrigen erfolgen kann, daß das Resultat einer Wegnahme oder Zufügung eines solchen keineswegs einer einfachen Subtraktion oder Addition zu vergleichen ist.

v. Kemnitz (München).

Max Morse, Arteficial parthenogenesis and hybridization in the eggs of certain invertebrates. In: Journal of Exper. Zool. Vol. XIII. p. 471—496. 1912.

Die Ergebnisse dieser an den Eiern von *Cerebratulus lacteus* und *C. marginatus* und *Arbacia* angestellten Versuche lassen sich in wenige Worte zusammenfassen:

1. Sämtliche sonst erfolgreich angewandten Mittel zur Erzielung künstlicher Parthenogenese bewirken bei *Cerebratulus* lediglich Bildung der Richtungskörper und vereinzelte, bald sistierende Furchungen. Am wirksamsten erwies sich noch Saponin.
2. Heterogene Hybridisation hat bei *Cerebratulus* nur mit Sperma von *Ilyanassa* Erfolg (in einigen Fällen Richtungskörperbildung), versucht wurden außer *Ilyanassa* noch: *Echinarachinus*, *Phascolosoma* und *Mytilus*. Eine Unterstützung der Bastardierung durch künstliche Parthenogenese anregende Mittel war nicht nachzuweisen.
3. Spermaextrakt beeinflußt die unbefruchteten Eier von *Cerebratulus* und *Arbacia* nicht.
4. Lecithin aus Hühnereiern und aus Eiern und Sperma von *Arbacia* hat keine Wirkung auf unbefruchtete *Arbacia*-Eier.

v. Kemnitz (München).

Jacques Loeb, The Comparative efficiency of weak and strong bases in arteficial parthenogenesis. In: Journal of Exper. Zool. Vol. XIII. p. 577—590. 1912.

Die unbefruchteten Eier von *Arbacia* können zu künstlicher Parthenogenese angeregt werden durch Behandlung mit $NH_4.OH$ und nachfolgender Einwirkung von neutralen hypertonischen Salzlösungen (genaue Angaben im Original). Ein großer Prozentsatz der so behandelten Eier erreicht das Pluteusstadium. Die schwache Base $NH_4.OH$ ist bedeutend wirksamer als KOH, NaOH und Tetraäthylammoniumhydroxyd, zeigt also völlige Analogie mit der Wirksamkeit schwacher Säuren (einbasische Fettsäuren und CO_2) gegenüber Mineralsäuren bei künstlicher Parthenogenese. Die Wirkung des $NH_4.OH$ kann durch KCN-Zusatz aufgehoben werden, wobei sich zeigt, daß die Oxydationen im Seeigelei nicht auf die äußerste Oberfläche beschränkt sind.

v. Kemnitz (München).

Ethel Nicholson Browne, A study of the male germ cells in Notonecta. In: Journal of Exper. Zool. Vol. XIV. p. 61—102. 10 Plates. 1913.

Verf. untersuchte die Spermatogenese von *Notonecta undulata*, *N. irrorata* und *N. insulata* und beschreibt zunächst die Reifeteilungen. In allen drei Species ist ein X Y-Chromosomenpaar vorhanden. In der ersten Reifeteilung sind beide Partner noch getrennt und werden äquationell geteilt, vor der zweiten erfolgt Konjugation und darauf reduktionelle Trennung (also wie bei *Lygäus* und *Oncopeltus*). Besondere Beachtung verdienen die Chromosomenzahlen der drei Arten. Die Normalzahl bei *N. undulata* beträgt 26. Daher erscheinen in der Prophase I 14 (X und Y noch getrennt), in der Prophase II 13 einschließlich zweier (bivalenter) kleiner Chromosomen (a). Bei *N. irrorata* ist die Normalzahl 24 dementsprechend in der Prophase I 13 und in der Prophase II 12 einschließlich eines (bivalenten) kleinen Elementes (a). Bei *N. insulata* konnte die diploide Zahl nicht ermittelt werden. In der Prophase I erscheinen 14 oder 13, in der Prophase II stets 12 Elemente. Sind 14 vorhanden, so sind darunter zwei kleine (bivalente) Elemente (also wie bei *N. undulata*), treten dagegen nur 13 auf, so ist nur ein kleines (bivalentes) Element (a) darstellbar (also wie bei *N. irrorata*). Das andere kleine Paar ist dann einem großen Autosomenpaar (M) angehängt (im ersten Fall erfolgt die Anhängung auch, aber erst vor der II. Reifeteilung), sodaß *N. insulata* bezüglich des Verhaltens der kleinen Chromosomen gewissermaßen die Mitte hält zwischen den beiden andern, denn man kann sich vorstellen, daß bei *N. irrorata* die Bindung zwischen großen (M) Chromosomen und kleinen (a) Chromosomen schon soweit vorgeschritten ist, daß eine Lösung nicht mehr möglich ist. Die Form des großen (M) Chromosomenpaares in der Prophase I liefert für diese Annahme Anhaltspunkte. Folgendes Schema veranschaulicht die Verhältnisse nochmals:

	Produkte der I. Reifeteilung	Produkte der II. Reifeteilung
N. undulata .	M + 9A + X + Y + a + a (14	M + 9A + X + a + a (13) ♀ M + 9A + Y + a + a (13) ♂
N. insulata	entweder: M + 9A + X + Y + a + a (14)	Ma + 9A + X + a (12) ♀
	oder: Ma + 9A + X + Y + a (13)	Ma + 9A + Y + a (12 ♂
N. irrorata .	Ma + 9A + X + Y + a (13)	Ma + 9A + X + a (12 ♀ Ma + 9A + Y + a (12 ♂

Bezüglich des Verhaltens des X Y-Paares ist noch von Interesse, daß eine Konjugation der Partner in der Telophase der I. Reifeteilung häufig unterbleibt. Wir hätten dann für dieses Paar eine Art von Primärtypus — wie ihn Goldschmidt (05) — allerdings für sämtliche Chromosomen — bei *Zoogonus* beschrieben hat! Was das Verhalten der kleinen (a) Chromosomen betrifft, so ist zu bemerken, daß die Anheftung an die großen Autosomen im Prinzip natürlich durchaus dem Verhalten der X-Chromosomen bei *Ascaris megalocephala*, *lumbricoides* und *felis* (Boveri 09, Edwards 10, 11) zu vergleichen ist, daß es sich bei *Notonecta* aber um eine gegenseitige Bindung von Autosomen handelt.

Es wäre also anzunehmen, daß in den Fällen der Bindung von kleinen (a) und großen (M) Autosomen die in beiden lokalisierten Merkmale »verkoppelt« vererbt würden. — Die Schilderung der Wachstumsperiode beginnt für *N. insulata* mit einem Stadium, auf welchem die Chromosomen in einen einzigen großen chromatischen Körper kondensiert sind, den BROWNE in Anlehnung an BLACKMAN (03) als »Karyosphäre« bezeichnet. Aus dieser Karyosphäre sondern sich durch Abfließen chromatische Brocken ab, deren Zahl zwischen diploider und haploider liegt (infolge von fortschreitender Konjugation?) ähnlich dem Stadium der »Prochromosomen«. Allmählich verteilt sich das Chromatin auf dem Liningerüst, wodurch ein Stadium entsteht, das einige Ähnlichkeit mit einem Spirem hat. Die einzelnen Schleifen stehen noch mit der Karyosphäre in Verbindung. Allmählich fließen sie wieder in die Karyosphäre zurück, so daß annähernd wieder das Bild des Ausgangsstadiums resultiert. Die Karyosphäre ist nun deutlich aus mindestens zweierlei Komponenten zusammengesetzt: einer weniger dichten Matrix und in diese eingelagerten dichten chromatischen Brocken, die später die Prophasenchromosomen bilden. In diesem Zustand verharrt die Karyosphäre während der ganzen Wachstumsperiode. Die Bildung der Prophasenchromosomen erfolgt in der Weise, daß die Chromatinbrocken in Schleifenform die Karyospähre verlassen und an die Peripherie des Kernes wandern, wo sie sich zu den definitiven Prophasenchromosomen umbilden! Der Prozeß dieser »Auswanderung« läßt sich Schritt für Schritt verfolgen. Die chromatinfreie Karyosphäre bleibt als Plastinnucleolus (»Plasmosom«) zurück. In ähnlicher Weise verläuft der Prozeß auch bei *N. undulata* und *irrorata*. Damit ist erwiesen, daß das Material der Reifungschromosomen aus der Karyosphäre stammt. BROWNE erblickt aber darin keinen Beweis gegen die Lehre der Chromosomenindividualität. Diese Beobachtungen sprechen jedenfalls sehr zugunsten der vom Ref. kürzlich vertretenen Auffassung von den innigen Beziehungen zwischen Chromosomenausbildung und Chromatinnucleolen. — Bei der Bildung der Reifungschromosomen treten die bekannten Kreuz- und Ringfiguren auf. Die Reifeteilungen selbst verlaufen für die Autosomen wahrscheinlich präreduktionell — postäquationell. — Es folgen noch einige Beobachtungen über die Mitochondrien, die sich, ebenso wie die Karyosphäre, sehr gut im Leben beobachten lassen. Die Mitochondrien lagern sich oft in Massen der Kernmembran an, stammen aber sicher nicht aus dem Kern, obwohl BROWNE es für wahrscheinlich hält, daß die Hauptbildung der Mitochondrien sich unter dem Einfluß des Chromatins vollzieht. — Verf. sucht die merkwürdigen Verhältnisse der Karyosphäre aus dem bei *Notonecta* besonders intensiven Wachstum der Spermatocyten zu erklären und in eine Richtung zu bringen mit dem GIARDINAschen Ring u. a. Es wäre sicher von hohem Interesse, die Eibildung ebenfalls zu untersuchen, besonders auch im Hinblick auf das Verhalten der kleinen (a) Chromosomen.

v. Kemnitz (München).

HARRY FEDERLEY, Das Verhalten der Chromosomen bei der Spermatogenese der Schmetterlinge *Pygaera anachoreta*, *curtula* und *pigra* sowie einiger ihrer Bastarde. Ein Beitrag zur Frage der konstanten intermediären Artbastarde und der Spermatogenese der Lepidopteren. In: Zeitschr. f. indukt. Abstamm. und Vererbungslehre. 4 Tafeln. S. 1—110. 1913.

Ich beschränke mich bei Referierung der interessanten Untersuchung FEDERLEYS im wesentlichen auf den »Speziellen Teil«. — Über die Ergebnisse seiner *Pygaera*-

Bastardierungen hat FEDERLEY bereits früher (1911) berichtet. Für die Verwertung der cytologischen Befunde sei als Wichtigstes hier erwähnt, daß sämtliche F_1-Bastarde intermediär waren. Der intermediäre Charakter zeigte sich bei näherer Betrachtung als durch ein feinstes Mosaik bewirkt. Leider wurde nur ein F_2-Tier erhalten. Dagegen glückte die Rückkreuzung (*curtula*-♂ × *anachoreta*-♀) ♂ × *curtula*-♀. Resultat: keine Spaltung, sondern fast völlige Ähnlichkeit mit dem (Bastard)-Vater. Bei einer andern Rückkreuzung (*curtula*-♂ × *anachoreta*-♀) ♂ × *anachoreta*-♀ trat bei den Imagines ebenfalls keine Spaltung auf; wohl aber bei einem Merkmal der Raupe (Farbe der Warze auf dem Höcker des vierten Segmentes). — FEDERLEY untersuchte nun zunächst die Spermatogenese der reinen Arten. Bekanntlich hat MEVES (03) bei *Pygaera* das Vorkommen eupyrener und apyrener Spermatozoen nachgewiesen. Es seien daher zunächst die Befunde FEDERLEYS über die eupyrenen Spermien geschildert. — In »ruhenden« Spermatogonien findet sich ein Chromatinnucleolus und achromatische Chromosomen. In der Prophase werden letztere von dem Chromatinnucleolus chromatisiert, während der Nucleolus verschwindet. Die Normalzahl ist auf diesem Stadium schwer feststellbar. Aus der Betrachtung der Reifeteilungen ergibt sich aber, daß sie für *anachoreta* = 60, für *curtula* = 58 und für *pigra* = 46 anzunehmen ist. Nach der letzten Spermatogonienteilung tritt eine Synapsis (Synezisis) auf. Ein voraufgehendes Spirem wurde ebensowenig beobachtet wie typische leptotäne und pachytäne Bukettstadien. Die ersten Vorbereitungen zur Reifeteilung zeigen sich darin, daß die Chromosomen vom Chromatinnucleolus aus chromatisiert werden. Nach Ausbildung der Reifungschromosomen ist der Nucleolus verschwunden. Es handelt sich also nicht etwa um ein X-Chromosom. Die Konjugation der Chromosomen geht anscheinend erst auf dem Stadium der Diakinese vor sich, indem sich nach und nach V-förmige Elemente bilden, die schließlich offensichtlich in haploider Zahl vorhanden sind und allmählich

	curtula ♂ × *anachoreta* ♀	*curtula* ♂ × *pigra* ♀	*pigra* ♂ × *curtula* ♀
Spermatogonien . .	normal, diploide Zahl vermutlich 59 (29 + 30)	normal, diploide Zahl vermutlich 52 (29 + 23)	normal, diploide Zahl vermutlich 52 (23 + 29)
Synapsis	fehlt	fehlt	} wie in nebenstehendem reziprokem Bastard
Typische Diakinese	»	vorhanden	
Pseudoreduktion durch Konjugation	»	findet zwischen einigen Chromosomen statt	
I. Reifeteilung . .	äquationell	gemischt äquationell-reduktionell	
II. » . .	»	äquationell	
Anomalien	Zusammenfließen d. Chromosomen, dadurch Amitosecharakter, multipolare Spindeln u. Doppelbildungen	wie nebenstehend	

»Semmelform« annehmen. Die Zahl der bivalenten Elemente läßt sich auf diesem Stadium mit Sicherheit bestimmen (30 bzw. 29 bzw. 23). Die Art, wie die Chromosomen konjugieren, spricht nach FEDERLEY für Metasyndese. Ref. möchte dazu bemerken, daß — falls die Konjugation überhaupt erst in der Diakinese und nicht in der Synapsis erfolgt — es denkbar ist, daß die Konjugation an den Enden beginnt und durch Fortschreiten der Länge nach schließlich zu einer parallelen wird (vgl. WILSON 12, v. KEMNITZ 13), wofür die ursprüngliche V- und spätere »Semmelform« jedenfalls sprechen würden. Die erste Reifeteilung erfolgt reduktionell, die zweite äquationell. Bezüglich der apyrenen Spermien ist von Interesse, daß — wie MEVES ebenfalls bei den apyrenen Spermien von *Paludina* feststellte — eine Chromosomenkonjugation in der Regel nicht erfolgt. Die Folge davon ist Auftreten der Normalzahl in der I. Reifeteilung (das erinnert an den Fall von *Zoogonus* nach GOLDSCHMIDT!) und eine unregelmäßige Verteilung der Chromosomen auf die beiden Pole. Die allmähliche Vacuolisation und Resorption der Chromosomen nach der II. Reifeteilung erfolgt im wesentlichen so, wie es bereits MEVES schilderte. — Die wesentlichsten Resultate der eupyrenen Spermatogenese der primären F_1-Bastarde seien in obiger Tabelle S. 482 mitgeteilt:

Zu dieser Tabelle sei noch Folgendes bemerkt: Bei dem Bastard *curtula*-♂ × *anachoreta*-♀ kommt es ebenfalls vor, daß einige (1—3) Chromosomen paarweise in den Prophasen I konjugieren, wie sich aus den Zahlenverhältnissen und aus der charakteristischen »Semmelform« der bivalenten Elemente ergibt. In diesen Fällen wird auch hier die I. Reifeteilung zu einer gemischten Äquations- und Reduktionsteilung. In den beiden andern Bastarden konjugieren in der Regel doppelt soviel Chromosomen, nämlich 4—6. Die apyrene Spermatogenese verläuft analog der der Eltern.

Eupyrene Spermatogenese des sekundären Bastards (*curtula* ♂ × *anachoreta* ♀) ♂ × *anachoreta* ♀

Spermatogonien .	normal, diploide Zahl muß 89 betragen (29+30+30).
Synapsis.	gut ausgebildet.
Diakinese	vorhanden.
Prophase I . . .	es treten etwa 30 V-förmige, später »Semmelform« annehmende bivalente und etwa ebensoviel univalente Chromosomen auf.
Pseudoreduktion durch Konjugat.	findet offenbar zwischen sämtlichen *anachoreta*-Chromosomen statt.
I. Reifeteilung .	für die bivalenten *anachoreta*-Chromosomen reduktionell.
	für die univalenten *curtula*-Chromosomen äquationell.
II. Reifeteilung .	äquationell.

Zu diesen Befunden kommt noch ein wichtiger über die apyrene Spermatogenese. Wie bei den reinen Arten treten auch hier die Chromosomen, ohne eine Pseudoreduktion durch Konjugation erfahren zu haben, in diploider Zahl in die Prophase I ein und FEDERLEY bestimmte ihre Zahl zu mindestens 70—77, also bei den erheblichen Fehlerquellen eine gute Annäherungszahl an die zu erwartende maximale diploide Zahl 89. — Die sehr bemerkenswerte Tatsache, daß bei den reinen Arten eine Synapsis auftritt, bei den primären F_1-Bastarden fehlt und bei den sekundären $F_1 \times P$-Bastarden wieder beobachtet wird, scheint zunächst dafür zu sprechen, daß die Konjugation (artgleicher)

Chromosomen tatsächlich in jenem Stadium stattfindet. FEDERLEY gibt indessen ausdrücklich an, daß die Konjugation erst in der Diakinese stattfindet. Die Synapsis muß dann — zum mindesten im vorliegenden Fall — eine andre Bedeutung haben. — Aus dem Allgemeinen Teil sei nur noch kurz auf das Wichtigste: die Frage der Entstehung konstanter Bastardrassen eingegangen. Aus seinen cytologischen Beobachtungen zieht FEDERLEY den Schluß, daß die Voraussetzungen für die Entstehung konstanter Bastardrassen immer dann gegeben sind, wenn eine Konjugation der Chromosomen in Ovo- und Spermatogenese unterbleibt (bzw. bei Rückkreuzung $F_1 \times P$ nur zwischen artgleichen Chromosomen stattfindet), ein Eliminationsprozeß wie etwa bei Echinodermen (BALTZER, HERBST) nicht stattfindet und die Theorie der Chromosomenindividualität zu Recht besteht. Alle diese Bedingungen sind in den Beobachtungen FEDERLEYS realisiert (FEDERLEY hat guten Grund zu der Annahme, daß die Chromosomen sich in der — noch zu untersuchenden — Ovogenese prinzipiell ebenso verhalten wie in der Spermatogenese) und die züchterischen Resultate stimmen, soweit sie vorliegen, aufs beste mit den Erwartungen überein (vgl. oben). Die alte SUTTONsche Hypothese (02) von der Entstehung konstanter Bastardrassen durch vollkommene Verschmelzung homologer Chromosomen (zu »Mixochromosomen«) wird durch diese Beobachtungen hinfällig.

v. Kemnitz (München).

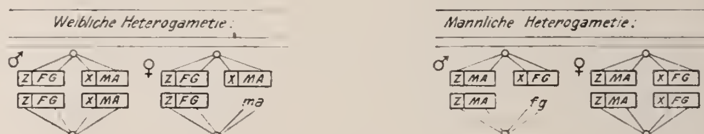
R. GOLDSCHMIDT, Cytologische Untersuchungen über Vererbung und Bestimmung des Geschlechtes. Vortrag, gehalten in der Gesamtsitzung der naturwiss. und der mediz. Hauptgruppe der 84. Versammlung deutsch. Naturf. und Ärzte in Münster i. W. am 19. Sept. 1912. 5 Tafeln und 40 Textfig. S. 79—149. 1913.

Der vorliegende Vortrag ist der zweite von den beiden Vorträgen, die CORRENS und GOLDSCHMIDT auf der Naturforscherversammlung in Münster gehalten haben. Während CORRENS die Resultate mendelistischer Forschung auseinandersetzte, entwirft GOLDSCHMIDT in ungefähr zwei Drittel seines Vortrages ein Bild der Ergebnisse cytologischer Beobachtungen über den Gegenstand, um schließlich in dem interessantesten letzten Teil zum erstenmal eine eingehende, sehr glückliche Zurückführung der mendelistischen Tatsachen auf die Chromosomenlehre zu geben. — Ausgehend von den elementaren Tatsachen der Karyokinese und den Befunden BALTZERS und HERBSTS über die Beziehungen zwischen Vererbungsrichtung und Chromosomenverhältnissen der Echinodermenlarven als Grundlage der Lehre von der Chromosomenhypothese der Vererbung, erläutert Verf. an den Dispermieversuchen BOVERIS die qualitative Verschiedenheit der Chromosomen. Es folgt eine Darstellung des Reduktionsprozesses auf Grund der Annahme einer Parasyndese väterlicher und mütterlicher Chromosomen, eine Erläuterung der doppelten und einfachen »Chromosomengarnituren« an den Beispielen der Wanzen und Heuschrecken und schließlich die Übertragung eines einfachen Mendelfalles auf die Chromosomenlehre an Hand verschiedener klarer Schemata. Anschließend hieran kommt GOLDSCHMIDT auf die Geschlechtschromosomen zu sprechen. Der ganze folgende Teil zeichnet sich außer durch klare Darstellung besonders durch die — auf Tafeln beigegebenen — sehr übersichtlichen Schemata der Cyklen der Geschlechtschromosomen aus, so für *Lygäus*, *Ancyracanthus*, *Ascaris*, Blattläuse und *Angiostomum*. Der Fall von *Lygäus* ließe, wäre er der einzig vorkommende, die Übertragung der mendelistischen Experimentaltatsachen auf die Chromosomen als ein

Leichtes erscheinen. Da dies aber nicht der Fall, bringt Verf. zunächst das weitere celluläre Tatsachenmaterial. Den verbreitetesten Typus der geschlechtsbestimmenden Chromosomen den *Protenor*-Typ, bringt Goldschmidt an dem Idealbeispiel des *Ancyracanthus cystidicola* nach Mulsow zur Anschauung, zu dem sich als Variante noch der *Ascaris*-Typus gesellt. Weitere Varianten des *Lygäus*-Typus wie *Acholla*, *Gelastocoris*, *Prionidus*, *Fitchia* erläutert eine übersichtliche Darstellung nach Payne. Es folgen die Fälle mit Generationswechsel an dem Beispiel der Aphiden und das von *Angiostomum nigrovenosum*. Damit ist das cytologische Tatsachenmaterial erschöpft und es handelt sich nunmehr darum, die Schwierigkeiten, die der Übertragung dieser Tatsachen auf die Ergebnisse mendelistischer Forschung entgegenstehen, zu überbrücken. Die Schwierigkeit die — bei der Annahme, daß die Vererbung des Geschlechtes nach dem Schema einer Kreuzung zwischen Homozygoten und Heterozygoten mit Bezug auf den Geschlechtsfaktor vor sich geht — zunächst darin zu bestehen schien, daß die Mehrzahl der bekannten Objekte dem *Protenor*-Typ folgt, also beim heterozygoten ♂ dem X-Chromosom kein Partner gegenüber steht, läßt sich zwar vom Standpunkt der presence-absence-Theorie umgehen. Dagegen erwachsen aber Schwierigkeiten anderer Art. Bei der — cytologisch erwiesenen — Heterogametie des ♂ sind, mendelistisch gesprochen, zunächst nur zwei Formeln möglich, nämlich ♂ = Mm (dominante Männlichkeit), ♀ = mm, d. h. im X-Chromosom müßte der Faktor M für Männlichkeit stecken. Dem widerspricht aber, daß die Spermien mit X weibchenerzeugend sind und in der Formel für ♀ kein M vorhanden ist. Die zweite Möglichkeit wäre durch die Formeln ♀ = FF, ♂ = Ff gegeben. Dann müßte f (also das Fehlen des Weiblichkeitsfaktors) dominant werden über sein Vorhandensein, was undenkbar ist. Ebenso ungangbar ist der von Castle betretene Weg der Annahme selektiver Befruchtung. Hier setzt nun die neue Goldschmidtsche Formulierung ein, die kurz zuvor in ähnlicher Weise auch von Morgan und Sturtevant durchgeführt wurde. Goldschmidt hält sich an seine eigne, durch seine Untersuchungen über die Vererbung der sekundären Geschlechtscharaktere an *L. dispar* und *japonika*, experimentell begründete Darstellung. — Die Vererbung der sekundären Geschlechtscharaktere geht nach Goldschmidt so vor sich, daß jedes Geschlecht die Faktoren für die sekundären Geschlechtscharaktere beider Geschlechter besitzen muß. Ist A = Faktor für ♂ sekundäre Geschlechtscharaktere, G = Faktor für ♀ sekundäre Geschlechtscharaktere, so lauten die Erbformeln für den Fall weiblicher Heterogametie (Schmetterlinge!): ♀ = GGAa, ♂ = GGAA (AA dominiert über GG). Da aber die sekundären Geschlechtscharaktere normalerweise gekoppelt mit den primären vererbt werden, müssen für letztere analoge Formeln gelten. Für M = ♂ Geschlecht, F = ♀ Geschlecht — wieder bei Annahme weiblicher Heterogametie — also: ♀ = FFMm, ♂ = FFMM (MM dominiert über FF). Bei männlicher Heterogametie lauten die Formeln: ♀ = GGAA und FFMM, ♂ = AAGg und MMFf. (Die endgültigen Erbformeln entstehen durch sinngemäßes Zusammenziehen je zweier dieser Formeln, also im ersten Fall: ♂ = GGAAFFMM, ♀ = GGAaFFMm usw.) Bei Annahme von männlicher Heterogametie enthält dann das X-Chromosom den Weibchenbestimmer F, sowie den Faktor G für ♀ sekundäre Geschlechtscharaktere. Der in beiden Geschlechtern vorhandene Männlichkeitsbestimmer M und der zugehörige Faktor A für ♂ sekundäre Geschlechtscharaktere muß dann in einem der andern Chromosomen liegen, das Z-Chromosom genannt sei. In den Reifeteilungen würde dann die Verteilung wie folgt verlaufen (vgl. umstehendes Schema S. 486):

Es hat demnach den Anschein, als sei es gar nicht nötig, besondere Faktoren für primäre und sekundäre Geschlechtscharaktere anzunehmen, da diese ja »gekoppelt«

sind. Goldschmidt hat indessen gezeigt, daß sich experimentell Geschlecht und sekundäre Geschlechtscharaktere trennen lassen. Daher denn auch die getrennte Bezeichnung. — Mit Hilfe dieser Formeln lassen sich nunmehr die mendelistischen Tatsachen aufs beste mit der Chromosomenhypothese der Vererbung vereinen. Goldschmidt zeigt dies an Hand übersichtlicher Schemata im einzelnen für die verschiedenen Kreuzungen zwischen *Abraxas grossulariata* und *lacticolor*. Die *lacticolor*-Form ist als »Ausfallsmutante« in der Weise entstanden zu denken, daß der *Grossulariata*-Faktor G, der



zusammen mit dem Faktor M im X-Chromosom enthalten ist (vgl. obiges Schema!) — verschwindet. — Es ist klar, daß wie bei *Abraxas*, jede »Subtraktions«- und jede »Additions«mutante, die innerhalb des X-Chromosoms auftritt (*Drosophila*!) geschlechtsbegrenzt, unabhängig vom Geschlecht dagegen vererbt wird, wenn sie am Z-Chromosom oder einem der andern Autosomen auftritt. So muß angenommen werden, daß die Farbenblindheit des Menschen durch eine Mutation innerhalb des X-Chromosoms bedingt ist, da sie geschlechtsbegrenzt auftritt und zwar nur beim (heterogametischen) Mann. Voraussetzung dabei ist, daß normale Beschaffenheit dominant gegenüber der rezessiven Anomalie ist. (Die Paarung einer »übertragenden« — also heterozygoten — Tochter mit einem farbenblinden Mann müßte dann zu ein Viertel homozygote farbenblinde Töchter geben!). — Die Frage der Geschlechtsbestimmung führt den Verf. schließlich auf die Frage, was den ganzen Chromosomenmechanismus reguliert, was gewissermaßen hier das Oberbewußtsein repräsentiert. Was bewirkt z. B. die Elimination eines X-Chromosoms bei den ♂ Sexuparen der Blatt- und Rebläuse? Noch merkwürdiger muß — Ref. — wohl der Fall von *Angirotomum* erscheinen, wo die ♂ bestimmenden Spermien der getrenntgeschlechtlichen Generation zugrunde gehen, die — ihrem Chromosomenbestand nach — ganz gleichen Spermien der hermaphroditen Generation dagegen befruchtungsfähig sind! Welcher Art sind die »übergeordneten Faktoren«, die den Chromosomenmechanismus leiten? Zwar hat sich durch die Untersuchungen über die Sexualitätsverhältnisse bei Daphniden und Rotatorien gezeigt, daß gewisse Außenfaktoren Einfluß auf die Geschlechtsbestimmung haben. Der Frage nach der Natur jener »übergeordneten Faktoren« sind wir dadurch nicht näher gekommen. Vielleicht gelingt die Lösung dieses Rätsels einmal serologischer und physiologisch-chemischer Forschung. — Ein Referat über eine Abhandlung, die selbst zum großen Teil die Ergebnisse der Forschung zusammenfaßt, kann naturgemäß nur das Wichtigste wiedergeben. Und so sollen diese Zeilen dem Leser auch nur die Anregung dazu geben, den hochinteressanten Ausführungen Goldschmidts in extenso im Original zu folgen.

v. Kemnitz (München).

G. Kautzsch, Studien über Entwicklungsanomalien bei *Ascaris*. II. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. XXXV. Hft. 4. (Selbstreferat.)

Die Furchung atypisch zusammengesetzter Eier von *A. megaloceph.* wird für gewisse Probleme der typischen Entwicklung verwertet.

1. Entwicklung bei abnormem Chromatingehalt. Das Material, von *A. bivalens* stammend, zeigte im Leben unregelmäßige Teilungserscheinungen, in den Präparaten große Variabilität in Zahl, Größe und Zustand von Eichromosomen und Richtungskörpern, beruhend auf unregelmäßiger Verteilung und Zerstückelung der Schleifen während oder vor der Richtungskörperbildung infolge mangelhafter Trennung der Tochterschleifen bei der Zellteilung. Nach Befruchtung durch gesunde *Univalens*-Spermien erfolgte mehr oder weniger normale Entwicklung, zum Teil bis zum Würmchen. Verschiedene Entwicklungstypen je nach Lage und Degenerationszustand des Eichromatins.

Gelangt alles Chromatin in die Dorsalzelle *AB*, so kann sich die kernlose Ventralzelle P_1 noch typisch radial teilen; ihre Tochterzellen versuchen die normale Anordnung zum Rhombus. — Erhält P_1 nur sehr wenig Chromatin, so steht die Entwicklung bald still, während die Nachkommen der chromatinreichen Zelle *AB* sich weiter teilen. — Gelangt nur ein Schleifenstück nach *AB*, so liefert es bei der Diminution wie ein Teil einer ganzen Schleife einige Körner und ein abgestoßenes Ende (im Hinblick auf neuere Einwände gegen die Erhaltung der Chromosomen in der Kernruhe nachdrücklich hervorzuheben!). — Ist das weibliche Chromatin nicht mehr teilungsfähig, so kann es als Ganzes nach *AB* gelangen und dort die weitere Furchung hemmen, während das *univalens*-Chromosom sich normal teilt. So kann eine typische achtzellige Ventralgruppe neben ein bis zwei Dorsalzellen entstehen. — Kommt die erste Eiteilung nicht zustande, so folgt Vierteilung (monosperme Simultanvierer, s. u.) — Ist das weibliche Chromatin schon vor der Teilung abgestorben oder fehlt es ganz, so macht die einzige (*univalens*) Schleife den mitotischen Cyklus gesetzmäßig durch (Merogonie). Oft erfolgt normale Entwicklung, mindestens bis zum vielzelligen ovalen Embryo. Ferner zeigt ein Vergleich der Kerngröße — namentlich der Urgeschlechtszellen — gewöhnlicher Würmchen mit derjenigen von Würmchen aus dem besprochenen Material bei letzteren Formen mit winzigen Kernen, also jedenfalls unternormaler Chromosomenzahl. Augenscheinlich wird die typische Kernplasmarelation nicht wiederhergestellt; die Zellenzahl bleibt konstant. Es können sich wohl selbst Eier mit nur einer Schleife, wenn sonst gesund, zu Würmchen entwickeln. Daß nur 2—3% aller Eier Würmchen bildeten, beruht nicht auf atypischer Schleifenzahl, sondern auf der ab ovo vorhandenen Schädigung von Chromatin und Zellplasma. Nur großer Chromatinüberschuß wirkt direkt hemmend, sonst ist die Entwicklungsfähigkeit innerhalb gewisser Grenzen unabhängig von der Schleifenzahl.

2. Die Frage nach den Geschlechtschromosomen bei *Ascaris megalocephala* wurde an dem merogonischen Entwicklungstyp (nur eine Schleife vorhanden) untersucht. In einigen Fällen ließen sich die Körner der Diminutionsplatten im Vierzellenstadium zählen. Es ergab sich ein auffallender Unterschied (etwa 27 bei einem Embryo gegen etwa 36 bei einem andern). Danach beträgt die Zahl der somatischen Chromosomen (Körner) bei *A. bivalens*, wenn überhaupt konstant, 108 bzw. 144. Der gefundene Unterschied ist — nach Analogie mit *A. lumbricoides* — vielleicht sexueller Natur; die höhere Zahl würde für das ♀ gelten. Dagegen ist der Verf. der Überzeugung, daß alle bisher gefundenen Geschlechtschromosomen bei *A. megalocephala* sich auch durch

zufällige Fragmentierung von Schleifen erklären lassen[1]). Was die Gründe dafür anlangt, so muß auf die Arbeit selbst verwiesen werden.

3. Bei einer an Riesenembryonen reichen *Ascaris* konnte die bisher rätselhafte Entstehungsweise dieser Gebilde aufgeklärt werden. Sie entstehen nur durch Verschmelzung unbeschalter Eier, wenn nach der Befruchtung die Isolierung durch die Membran stellenweise unterbleibt. Eine Verschmelzung schon beschalter Eier (Sala, Zur Strassen) existiert nicht. Die in diesem Sinne gedeuteten Bilder sind in Wirklichkeit Stadien sekundärer Abschnürung durch fortschreitende Schalenbildung. Die nachgewiesene Entstehungsart ist für die entwicklungsmechanische Wertung der Riesenembryonen von Bedeutung.

4. Zur Kausalität der Chromatindiminution. Eine Anzahl Fälle von atypischem Eintritt oder Unterbleiben der Diminution — aus verschiedenem Eimaterial — diente zur Untersuchung. Die atypische Diminution an Stelle einer Keimbahnmitose erfolgte stets parallel oder symmetrisch zur Richtung der Diminutionsmitose der Schwesterzelle. Beide Zellen erschienen als »gleichwertig« (totale Diminution, Embryonen ohne Keimbahn). Dasselbe gilt für die atypische Keimbahnmitose (Unterbleiben der Diminution, Verdoppelung der Keimbahn).

Dieses gleichartige mitotische Verhalten zweier Schwesterzellen beruht wahrscheinlich auf einer atypischen Entstehungsweise solcher Zellen. Dafür sprechen die »Ventralzwillinge« (Ballkeime Boveris; unter Zentrifugenwirkung erfolgt Teilung des Eies senkrecht zur Achse in zwei gleichwertige Ventralzellen P_1), und ein analoger »Dorsalzwilling« (in einem Fall von mechanisch erzwungener Querteilung der Eizelle senkrecht zur Achse zeigten später beide Tochterzellen Diminution mit parallelen Spindeln). Totale Diminution trat ferner bei einem Teil der oben erwähnten Simultanvierer während der Vierteilung auf. In allen Fällen beruht sie vielleicht darauf, daß die vorhergegangene Teilung (Teilungsversuch bei den Simultanvierern) senkrecht zur normalen Richtung (zur Achse) verlief. Bei der Zweiteilung einer Eizelle wurde nie Diminution beobachtet.

5. Die Ergebnisse in bezug auf das Strukturproblem des *Ascaris*-Eies können hier nur angedeutet werden. Gegen eine speziellere präformierte Plasmastruktur (Zur Strassen) spricht außer andern Gründen besonders der atypische Eintritt oder Ausfall der Diminution, (Ventralzwillinge, Dorsalzwilling, vor allem die total diminuierten Simultanvierer). Besonders letztere fordern den Verzicht auf Strukturannahmen überhaupt. Als topographisch determinierende Ursache der Zelldifferenzierung bliebe höchstens die Richtungsbeziehung zur vorhergehenden Zellteilung; bei der Eizelle die zur Abschnürungsrichtung des zweiten Richtungskörpers. Selbst dieser Anhalt versagt bei gewissen Riesenembryonen. Hier steht nur ganz allgemein die Organisation in Beziehung zur Anzahl der vorhandenen primären Furchungsspindeln.

Von Bedeutung für die Analyse der Zwillingsbildungen sind endlich gewisse scheinbare Doppelembryonen, die sich durch abnorme gegenseitige Verschiebungen der Zellen (und Umstimmung ihrer Qualität?) erklären lassen.

Ergebnis: Die Ontogenese von *Ascaris* läßt sich zwar als Selbstdifferenzierung bezeichnen, aber nicht auf strukturelle Präformation irgendwelcher Art zurückführen, weil die Potenzen der Zellen unter gewissen Umständen wechseln können.

---

[1]) Dies gilt auch von der inzwischen erschienenen Arbeit von S. Frolowa, Idiochromosomen bei *Ascaris megalocephala*. Arch. f. Zellf. Bd. IX. Hft. 1. 1912.

Das accessorische Chromosom in den Samenzellen der Locustide Diestrammena marmorata de Hahn.

Von

Dr. A. Schellenberg,

Assistent am Zoolog. Institut der Universität Breslau.

Mit Tafel XXIII—XXIV.

Inhalt.

I. Einleitung.

Im letzten Dezennium wurde die Spermatogenese der Orthopteren besonders von seiten der Amerikaner so häufig untersucht, daß man es fast für überflüssig erachten möchte, die Zahl der Arbeiten über diesen Gegenstand noch zu vermehren. Wenn ich trotzdem meine Befunde über die Samenentwicklung von *Diestrammena* veröffentliche, so geschieht es einmal, weil das Verhalten des accessorischen Chromosoms in den verschiedenen Spermatogonienphasen dieser Species in mehreren Punkten von den bis jetz bekannten Fällen abweicht und ferner weil eine möglichst vollständige Übersicht über alle Erscheinungsformen dieses

Gebildes bei einer so gut umgrenzten Gruppe wie den Saltatorien uns sicherlich noch manchen wertvollen Aufschluß über die Bedeutung der Heterochromosomen verschaffen wird, denn so viele Untersuchungen auch ausgeführt wurden, sie beschränken sich meist auf die Spermatocyten und manche begnügen sich selbst mit den Reifeteilungen, ohne die Spermatogonien in den Kreis ihrer Betrachtungen einzubeziehen. Eine Ausnahme besteht für diejenigen Formen, bei denen im Ruhestadium der Spermatogonien die Chromosomen in einzelnen Kernbläschen ihre Selbständigkeit bewahren. Dieses abweichende Verhalten, das bei den Saltatorien sehr häufig vorzukommen scheint, lenkte die Aufmerksamkeit auch auf die Spermatogonien und so liegen denn über derartige Kernbilder eine ganze Anzahl von eingehenderen Beobachtungen vor, während die Spermatogonien mit bläschenförmigem Kern meist rasch übergangen werden. Bei *Diestrammena* war es mir möglich, das accessorische Chromosom durch die ganze Kette der Spermatogonien II. Ordnung zu verfolgen, obgleich hier keine Karyomeriten gebildet werden, ich widmete daher dieser Phase meine besondere Aufmerksamkeit.

II. Material und Technik.

Das Material stammt aus einem deutschen Gewächshaus, in das diese japanische Stenopelmatide wohl mit Pflanzen eingeschleppt wurde. Zur Untersuchung kamen Individuen von 6 mm bis geschlechtsreife Exemplare von etwa 16 mm. Da die Tiere vollkommen flügellos sind, läßt sich beim Männchen das Alter rein äußerlich nur nach seiner Größe bestimmen. Ob vielleicht die Zahl der Antennenglieder mit dem Alter zunimmt, habe ich nicht untersucht, denn die Zählung wäre bei der Länge der Antennen sehr mühsam und außerdem unsicher, da naturgemäß leicht Stücke dieser langen Fühler abbrechen.

Die 6 mm großen Tiere, kleinere Exemplare konnte ich nicht erlangen, enthielten in ihren Hoden nur Spermatogonien oder mitunter noch ganz junge Spermatocyten I. Ordnung. In den Hoden der geschlechtsreifen Tiere fanden sich alle Stadien von Spermatogonien bis zu den fertigen Spermatozoen.

Gute Konservierung lieferte das Carnoysche Gemisch, ferner Schaudinns Gemisch mit einem geringen Zusatz von Eisessig. Die Hoden wurden dem narkotisierten Tier entnommen und sofort verarbeitet.

Die Schnitte fertigte ich in einer Dicke von 10 μ an. Diese entspricht ungefähr dem Durchmesser der größten Spermazellen, also dem der reifen Spermatocyten I. Ordnung.

Zur Färbung fand vor allem Hämatoxylin nach HEIDENHAIN Anwendung, da nur diese Methode bei der Masse der Chromosomen klare Bilder lieferte.

III. Spezielle Untersuchung.

a) Anordnung der Keimzellen im Hoden.

Die männlichen Gonaden sind paarig; jeder der kugeligen Hoden setzt sich aus etwa 30—40 von einer gemeinsamen Tunica umhüllten Schläuchen zusammen, die am apicalen Pol blind enden, terminal dagegen in das Vas deferens einmünden. In diesen Schläuchen oder Follikeln, wie sie besonders die Amerikaner bezeichnen, liegen die verschiedenen Generationen der Keimzellen übereinander, und zwar so, daß die jüngeren Stadien dem blinden Ende, die älteren dem Vas deferens zugekehrt sind. Die Keimzellen füllen die einzelnen Schläuche nicht in ununterbrochener Reihe aus, sondern sind in Gruppen angeordnet, jede Gruppe von einer Cystenmembran umschlossen. Das Alter der Spermazellen läßt sich demgemäß aus ihrer Lage berechnen, doch wird die Übersicht dadurch kompliziert, daß in einem Schlauch bis zu 6 Cysten auf dem gleichen Querschnitt neben einander liegen und infolgedessen gleich gelagerte Spermatocyten verschiedene Altersstadien aufweisen. Es läßt sich daher von diesem Gesichtspunkt aus keine unbedingt genaue Angabe über die Seriierung der einzelnen Bilder machen.

Jede Cyste enthält eine Partie Keimzellen, die sich alle in derselben Entwicklungsphase befinden, wenigstens besteht diese Angabe unbedingt für die jüngeren Stadien der Samenzellen bei *Diestrammena* zu Recht. Erst von der I. Reifeteilung an laufen die Phasen nicht mehr genau gleichzeitig ab. Hier findet man in einer Cyste sowohl Zellen in Metaphase wie in Anaphase, während dies in den Cysten der Spermatogonien niemals vorkommt. OTTE (1907) schreibt von *Locusta* »in einer Cyste sind die Stadien nur annähernd gleich« und gibt als Beispiel das Verhalten während der I. Reifeteilung an, so daß wohl auch hier für die früheren Generationen keine Ausnahme besteht. Man darf also bei Zellen, die sich noch nicht zur I. Reifeteilung anschicken, aus ihrer Lage in der gleichen Cyste mit Sicherheit auf ihre gleiche Entwicklungsstufe schließen. Da ferner diese Übereinstimmung im Entwicklungsstand, wie vor allem die Entstehung der Cyste durch Umwachsung einer Spermatogonie dafür spricht, daß sich ihr Inhalt aus dieser einen Spermatogonie gebildet hat, so läßt die Zahl der in einer Cyste befindlichen Zellen einen Schluß auf die Anzahl der durchlaufenden Teilungen und somit auf die Zahl der Zellgenerationen

zu. Normalerweise bildet sich bei *Diestrammena* die neunte Generation von Spermatogonien II. Ordnung zu Spermatocyten um, doch erfährt diese Regel in den spät angelegten Spermatocyten der geschlechtsreifen Tiere eine Ausnahme, da hier die Zahl der Generationen stark herabgemindert wird. Man findet in diesen Cysten statt 256 Spermatocyten I. Ordnung zuweilen nur 16, also an Stelle von neun nur fünf Generationen. (Die Zahl 256 läßt sich natürlich nur aus Näherungswerten unter Berücksichtigung der synchronen Teilung ermitteln.)

Die Größe der reifen Spermatocyte I. Ordnung oder ihres Kernes wird von der Anzahl der durchlaufenen Teilungen nicht beeinflußt, sie ist festgelegt, wo hingegen die Größe der Spermatogonien entsprechend der Zahl der Teilungen abnimmt.

b) Somatische Zellen des Hodens.

Wie bereits erwähnt, sind die Samenzellen von drei Hüllen umgeben, erstens der Tunica, die alle Hodenschläuche umschließt, zweitens der Schlauch- und drittens der Cystenwand. Die Zellkerne dieser Hüllen unterscheiden sich in Form, Größe und Struktur leicht von den Kernen der Samenzellen. Dort, wo sie in der glatten Wand liegen, sind sie abgeplattet, da wo sie sich an den Knotenpunkten der Hüllen befinden, polyedrisch.

Ihre Struktur kann je nach der Funktion, die sie ausüben, wechseln, sie zeigt in der Tat im reifen Hoden die weitestgehenden Unterschiede, aber nie liefert sie ein Bild, das einen Zweifel aufkommen ließe, ob es sich um eine somatische oder generative Zelle handelt. Ein gemeinsames positives Merkmal der Somazellen ist der Besitz von Nucleolen, ein negatives die Abwesenheit eines nachweisbaren Heterochromosoms.

Auch die Gestalt der Chromosomen ist bei den großen somatischen Zellen anders als bei den Geschlechtszellen. Sie ist schlanker und länger (Fig. 1), sodaß auch während der Mitose die Zellart unschwer zu erkennen ist. Bei kleinen Wandzellen versagt allerdings dieses Merkmal. Die Zahl ihrer Chromosomen ließ sich nicht bestimmen, ebensowenig die Art der Teilung, doch steht so viel fest, daß keins der Chromosomen weder vor noch während der Teilung sich abweichend verhält, wie dies für das Heterochromosom der Spermazellen gilt.

Abkömmlinge der Hüllzellen springen im reifen Hoden polsterartig in das Lumen vor, dort wo ehemals die Bildungsstätte der jüngsten Cysten lag. Mitunter ist auch hier und da noch eine Spermatogonie in dieses Polster eingebettet. Einer solchen Lage entstammt z. B. Fig. 20.

Zu den somatischen Zellen muß auch die VERSONsche Zelle gerechnet werden (Fig. 2). Sie liegt nahe dem blinden Ende eines jeden Hodenschlauches, umgeben von einer einfachen Schicht von Spermatogonien. Ob sie nur als Stütz- oder auch als Nährzelle der jungen Spermatogonien dient, mag dahingestellt bleiben. Jedenfalls weist die Struktur ihres Kernes eine große Ähnlichkeit mit jungen Wandzellen auf, wie andrerseits ihr Verhalten bestimmten Farbstoffen gegenüber eine secretorische Funktion dieser Zelle recht wahrscheinlich macht. Ihr Plasma färbt sich mit S. Fuchsin auffallend stark rot; ihr Chromatin ist in seiner Hauptmenge stets in Form größerer Tropfen oder Schollen angeordnet. Nie sah ich ein Bild eines andern Funktionszustandes oder gar eine Teilung. Es scheint, daß die VERSONsche Zelle von dem Entwicklungsstadium ihrer Spermatogonien in keiner Weise berührt wird.

c) Spermatogonien.

Der Grundtypus aller Spermatogonien, welcher Generation sie auch angehören mögen, ist in den entsprechenden Entwicklungsphasen der gleiche. Ihre Größe nimmt zwar mit der Zahl der durchlaufenen Teilungen etwas ab, doch ist diese Abnahme nicht so bedeutend, daß sich die Generation hiernach bestimmen ließe, um so mehr als ein beträchtliches Wachstum bald nach der Trennung einsetzt, so daß die Zelle vor der Teilung, selbst wenn sie einer späteren Generation angehört, die frisch geteilte Zelle an Größe bedeutend übertrifft.

Der Kerndurchschnitt ist ungefähr rund oder elliptisch, mitunter etwas ausgebuchtet, auch schmiegt er sich der äußeren Form der sich gegenseitig beengenden Zellen an. Nie jedoch zeigt er die gelappte oder gefingerte Gestalt, die für die Acridier typisch zu sein scheint und auch für verschiedene Locustiden beschrieben wurde (*Locusta*, OTTE 1907, *Steiroxys*, DAVIS 1908, *Decticus*, BUCHNER 1909), noch weniger findet irgend welche Karyomeritenbildung statt.

Eine Unterscheidung von Spermatogonien I. und II. Ordnung ist auf Grund ihres Aussehens nicht möglich. Als einziges Mittel hierfür bleibt die Lagebeziehung der Spermatogonien I. Ordnung zur VERSONschen Zelle. Diese Zelle mit ihrem Keimzellenkranz liegt teils ganz am Ende des Hodenschlauches, so daß ihre Spermatogonien unmittelbar an die Hülle angrenzen, teils etwas in das Innere des Schlauches vorgeschoben. Im letzten Falle lagern zwischen ihr und der Wand noch einzelne Spermatogonien und vor allem cystenbildendes Zellmaterial. Eine zusammenhängende Schicht von Spermatogonien I. Ordnung auf dem Grunde des Schlauches war selbst bei den jüngsten der untersuchten Exemplare nicht

zu erkennen, ich werde mich daher bei der Beschreibung der Spermatogonien I. Ordnung ganz auf die der Versonschen Zelle aufsitzenden Keimzellen beschränken.

Ihr Aussehen weicht, wie schon bemerkt, von den Spermatogonien II. Ordnung nicht wesentlich ab. Das Cytoplasma, das nur in geringer Menge vorhanden ist, streckt einen Ausläufer der Versonschen Zelle entgegen. Das gleiche Verhalten findet man jedoch auch in jungen Cysten, nur daß hier das Centrum, die Stützzelle, fehlt, und die Spermatogonien daher ohne diese nach der Cystenmitte konvergieren. Ebenso wie die einer Cyste angehörenden Spermatogonien II. Ordnung befinden sich auch die Spermatogonien I. Ordnung, die um dieselbe Versonsche Zelle gruppiert sind, stets auf der gleichen Entwicklungsstufe, sie verhalten sich also auch hierin genau wie der Inhalt einer jungen Cyste. Die Zellzahl in einem solchen Büschel betrug bei den untersuchten Exemplaren etwa 16 oder 32.

Was vor allem bei der Betrachtung der Spermatogonien auffällt, ist das stete Vorhandensein des accessorischen Chromosoms. Bei manchen Orthopteren wurde dies erst in der jungen Spermatocyte mit Sicherheit nachgewiesen (*Stenopelmatus*, Stevens 1905, *Syrbula*, Robertson 1908, *Oedipoda*, Buchner 1909, *Stenobothrus*, Gerard 1909) oder nur in den Mitosen der Spermatogonien an seinem abweichenden Verhalten erkannt (*Leptynia*, *Orphania*, *Gryllus domesticus*, de Sinéty 1901, *Gryllus assimilis*, Baumgartner 1904, *Melanoplus*, Nowlin 1908, *Pamphagus*, Granata 1910). Eine Ausnahme machen die Tiere, in deren Spermatogonien sich um jedes Chromosom oder zum wenigsten um das accessorische eine Kernblase bildet. Hier bleibt das accessorische Chromosom isoliert in seiner eigenen Blase bis zur nächsten Mitose erhalten und ist auch im Ruhestadium des Kernes leicht zu erkennen (*Brachystola*, Sutton 1900 und 1903, *Locusta*, Otte 1907, *Gryllus desertus*, Brunelli 1908, Amer. Acridier und *Steiroxys*, Davis 1908, *Phrynotettix*, Pinney 1908, *Stauronotus*, Artom 1909, *Decticus*, Buchner 1909). Ein längeres Persistieren des accessorischen Chromosoms zeigt dann noch der von Stevens (1905) für *Blatta germanica* beschriebene Fall, bei dem accessorisches Chromosom und Plastosom beide kugelig und fest verbunden sind. Sie tauchen jedesmal während der Ruhephasen des Kernes von neuem auf. In der Mitose verschwindet das Plastosom, das accessorische Chromosom ist dann von den Autosomen nicht zu unterscheiden.

Obgleich es bei *Diestrammena* nicht zur Bildung einzelner Kernbläschen kommt, auch kein Plastosom, mit dem es sich verbinden könnte, vorhanden ist, erhält sich das accessorische Chromosom auch im ruhenden Kern. Angeschmiegt an die Kernmembran zeigt es schon hier die

U- und V-Form, die es in allen Generationen der Spermatogonien beibehält und die auch dem accessorischen Chromosom der Spermatocyte zugrunde liegt. Was aber außer dieser dauernden Sichtbarkeit bei den jungen Spermatogonien besonders interessant erscheint, ist das häufige getrennte Auftreten der beiden Chromosomenschenkel, jedoch so, daß sich aus ihrer Lagerung schon deutlich eine Beziehung zu einander feststellen läßt. Nie sind die beiden Komponenten derart angeordnet, daß sie weit von einander entfernt in ganz verschiedenen Regionen der Zelle lägen, sondern sie befinden sich stets nahe bei einander und häufig mit zwei ihrer Enden konvergierend. Die Fig. 3—9 sind Spermatogonien I. Ordnung entnommen. Fig. 3, 4, 6 und 7 Ruhestadien, 5 frühe, 8 und 9 spätere Prophase. Fig. 7 und 9 zeigen ein schleifenförmiges accessorisches Chromosom, das seine Zusammensetzung aus zwei Teilen nicht mehr erkennen läßt. Es besitzt schon ganz die Gestalt, die für die späteren Generationen charakteristisch ist. In Fig. 6 sind die beiden Komponenten zwar schon verbunden, doch beweist die ganze Form, daß es sich bei diesem Gebilde um einen Aufbau aus zwei Teilstücken handelt. Noch nicht so weit ist die Verschmelzung in Fig. 5 gediehen. Fig. 3 und 4 endlich geben Stadien wieder, bei denen deutlich zwei getrennte Chromosomen vorhanden sind. Derartige Bilder sind keineswegs eine Seltenheit, sondern recht häufig.

Ganz ähnliche Phasen junger Spermatogonien II. Ordnung bringen Fig. 10—13 zur Darstellung, wobei Fig. 10 noch dadurch auffällt, daß die zwei Komponenten im rechten Winkel zu einander liegen und das eine Chromosom hakenförmig gekrümmt ist. Hier ist auch eine achromatische Brücke, die man vielleicht in den andern Fällen vermuten könnte, ausgeschlossen. Die jungen Spermatogonien zeigen also im Ruhestadium alle Übergänge von zwei vollständig getrennten stabförmigen Chromosomen bis zu dem doppelt so langen V-förmigen accessorischen Chromosom, das sich dann als einheitliches Gebilde präsentiert, obgleich die andern Bilder dafür sprechen, daß es sich um ein bivalentes Chromosom handelt, entstanden aus der endweisen Verschmelzung zweier Chromosomen. Diesen einheitlichen Bau zeigt das accessorische Chromosom auch stets in den Mitosen.

Die beiden Komponenten des accessorischen Chromosoms sind annähernd doch nie vollkommen gleich groß und gleich geformt. Eine geringe Differenz gibt sich selbst noch in manchen Schleifen zu erkennen (Fig. 7, 9 und 18).

Einige accessorische Chromosomen (Fig. 5, 13 und 16) weisen im Ruhestadium des Kernes, wenn alles übrige Chromatin fein verteilt und kaum färbbar ist, einen Längsspalt auf.

Nucleolen finden sich in den Spermatogonien nicht, doch liegen mitunter in den jüngsten Generationen nahe an den Kernwandungen einzelne sich mit Eisenhämatoxylin tief schwarz färbende Klumpen (Fig. 6 und 12). In den späteren Generationen verschwinden diese vollständig und die ruhende Zelle weist als stark chromatischen Körper nur das accessorische Chromosom auf.

Während die Spermatogonien I. Ordnung nur spärlich vorhanden sind und mir daher ihre Meta-, Ana- und Telophase nicht zu Gesicht kamen, lassen sich von den Spermatogonien II. Ordnung alle Entwicklungsstadien leicht auffinden. Freilich sind klare Bilder der Mitose infolge der hohen Chromosomenzahl äußerst selten. Fig. 20 zeigt eine Spermatogonie II. Ordnung (vermutlich I. Generation) in der Metaphase. Die in der Äquatorialplatte eng zusammengedrängten Chromosomen sind dick und stäbchenförmig. An der Peripherie liegen die großen Chromosomen, im Innern die kleinen. Bei den meisten läßt sich deutlich nach Form, Größe und Lage eine paarweise Übereinstimmung konstatieren, wie dies zuerst durch Montgomery (1901), später Sutton (1903) und die Mc. Clungsche Schule wiederholt festgestellt wurde. Ein Chromosom, das sich stets am Rande der Äquatorialplatte findet, weicht in Form und Partnerschaft von den übrigen ab, es ist schleifenförmig und besitzt kein Gegenstück, was uns nicht wundern kann, da es aus der Vereinigung zweier selbständiger Chromosomen entstanden ist, dies ist das accessorische Chromosom. Die Zahl der Chromosomen beträgt in den Spermatogonien 57.

In der Anaphase werden alle Chromosomen der Länge nach geteilt. Bei dem accessorischen Chromosom nimmt die Teilung etwas längere Zeit in Anspruch. Es ist dabei in diesem Stadium besonders klar zu sehen, da es, nachdem die übrigen Chromosomen bereits zu den Polen gerückt sind, allein zwischen den beiden Polplatten schwebt (Fig. 21). Diese Verzögerung in der Teilung ist vielleicht auf die größere Masse des accessorischen Chromosoms zurückzuführen, wahrscheinlicher jedoch auf seine andre Konsistenz, denn die Autosomen teilen sich trotz ihrer verschiedenen Größe synchron. Später wird das accessorische Chromosom in die Polplatten einbezogen, doch ragen zunächst noch seine langen Enden daraus hervor. An der Auflockerung der Autosomen der Telophase nimmt es ebenfalls teil, sodaß man es in diesem Stadium nur schwer mit Sicherheit nachweisen kann, denn einmal wird es von dem Autosomenknäuel leicht verdeckt, ferner hebt es sich, da es selbst nur noch aus einem dünnen Faden besteht, von der übrigen Masse schwer ab (Fig. 14).

Während in der Folge die Auflockerung der Autosomen zunimmt, so daß schließlich nur ein ganz schwach färbbares Netz übrig bleibt, nimmt

das accessorische Chromosom, sobald sich der Chromatinballen zu entwirren beginnt, an Masse und Färbbarkeit langsam zu (Fig. 15 und 16). Als Schleife, oft mit einem deutlichen Längsspalt versehen, liegt es nahe an der Kernmembran. Zunächst läßt es noch das Liningerüst erkennen, auf dem die Chromatinkörner aufgereiht sind, dann wird es dichter, zeigt aber noch eine rauhe Oberfläche, endlich, sobald sich die Autosomen herauskristallisieren, erscheint es glatt und kompakt (Fig. 17—19). Nur in der Prophase der Spermatogonien I. Ordnung, die Fig. 9 wiedergibt, weist es eine schlankere und weniger straffe Gestalt als die Autosomen auf, doch ist dieses Stadium nur einmal beobachtet worden und daher nicht hinreichend beweiskräftig.

Die Größe des accessorischen Chromosoms ist in der frühen Prophase am bedeutendsten, es übertrifft die Autosomen weit um das Doppelte, in der Metaphase hat es vermutlich durch Kontraktion an Größe etwas eingebüßt.

d) Spermatocyten I. Ordnung.

1. Autosomen.

Nach der letzten Spermatogonienteilung verklumpen die Autosomen nicht zu einem gemeinsamen Ballen, der sein Chromatin dann allmählich über das Kernreticulum ausbreitet, wie es nach den früheren Teilungen der Fall war, sondern die einzelnen Autosomen lockern sich in ihrem Gefüge zwar auf, bleiben aber noch einige Zeit als klar umrissene Chromatinparzellen erhalten (Fig. 22). Erst nach und nach strömt das Chromatin ab (Fig. 23), bis schließlich in der jungen Spermatocyte nur noch ein äußerst feines Spirem zu sehen ist, das Leptotänstadium (Fig. 24). Der weitere Bildungsgang der Autosomen bietet nichts Abweichendes. Das Spirem wird dicker (Fig. 25), ordnet sich bukettartig in Schleifen (Fig. 26 und 27), diese verteilen sich im Kernraum (Fig. 28 und 29), werden undeutlich (Fig. 30 und 31) und kondensieren sich zu Chromosomen (Fig. 32), die in einer Zahl von 28 in der Prophase der I. Reifeteilung wieder auftauchen (Fig. 33). Der klare Tetradenbau, den sie bei genügend starker Differenzierung der Färbung in der frühen Prophase besitzen, läßt sich in der Meta- und Anaphase in meinen Präparaten nicht mehr erkennen, sie erscheinen hier kompakt (Fig. 34). Die 28 Autosomen werden bei der I. Reifeteilung geteilt, ein weiterer Chromatinkörper, das accessorische Chromosom, wird ungeteilt von der einen Tochterzelle übernommen (Fig. 35).

2. Accessorisches Chromosom.

Ebenso wie die Autosomen nach der letzten Spermatogonienteilung noch einige Zeit erhalten bleiben, wahrt auch das accessorische Chromosom

durchaus seine Selbständigkeit. Genau in der gleichen U-förmigen Gestalt, in der es in die Mitose eintrat, liegt es nach vollzogener Teilung an seinem alten Platz nahe der Kernmembran (Fig. 22). Während aber die Autosomen später im Reticulum verschwinden, erhält sich das accessorische Chromosom dauernd im Verlauf der Wachstums- und Reifephase der Spermatocyte. Fast stets nimmt es das Hämatoxylin stark an und hebt sich aus diesem Grunde und infolge seiner dichten Konsistenz deutlich von den Autosomen ab. Erst in der späten Prophase I verwischt sich dieser scharfe Unterschied, da sich dann auch die Chromosomen kräftig färben (Fig. 33).

Doch nicht nur seine Färbbarkeit, auch seine Form zeigt eine große Konstanz. Von einer Auflockerung in ein Spirem (M. Clung 1902 und 1908, Otte 1907) ist hier nicht die Rede. In der ganz jungen Spermatocyte ist es noch schlank, seine beiden Schenkel sind U-förmig gespreizt (Fig. 22), dann kontrahiert es sich immer stärker, es wird dicker und kürzer, der freie Zwischenraum zwischen den Schenkeln verschwindet vollkommen und nur die Schleifenenden deuten noch darauf hin, daß wir es mit der alten, aber stark zusammengezogenen Grundform des accessorischen Chromosoms zu tun haben (Fig. 23 und 24). Manchmal will es freilich so scheinen, als ob die beiden Chromosomenschenkel an ihrer Umbiegungsstelle sich getrennt hätten, so daß wieder zwei kurze parallel liegende Stäbchen zum Vorschein kommen (Fig. 23), doch läßt sich dies nicht mit Bestimmtheit feststellen. Mit dem Leptotänstadium (Fig. 24) erreicht die Kontraktion des accessorischen Chromosoms ihren Höhenpunkt. Hierin zeigt es also ein den übrigen Chromosomen direkt entgegengesetztes Verhalten; diese sind in feinste Fäden ausgezogen, es selbst ist kurz, dick und kompakt und ähnelt in seiner Form einem echten Nucleolus. Von jetzt ab dehnt es sich wieder in die Länge. Noch bevor die Spermatocyte in das Bukettstadium eintritt, ist die Streckung so weit fortgeschritten, daß es ungefähr auf die Dicke der übrigen Chromatinschleifen reduziert ist, freilich aber viel kompakter bleibt (Fig. 26). Ein vorgetäuschter Längsspalt, der jedoch auf die ursprüngliche V-Form zurückzuführen ist, erhöht die Ähnlichkeit mit den Chromatinschleifen, doch schließt seine stärkere Färbbarkeit und die geringe Länge jeden Zweifel aus, mit welchem der beiden Gebilde man es zu tun hat. Auf die parallele Lagerung der V-Schenkel ist wohl zum Teil die häufige Angabe der Autoren, das accessorische Chromosom zeige einen deutlichen Längsspalt, zurückzuführen. Ohne die genaue Verfolgung der Genese ist diese Meinung leicht begreiflich. Die Kraft, welche im Bukettstadium die Chromatinschleifen mit ihren Enden alle nach einem Pol orientiert, bleibt auch auf

das Heterochromosom nicht ohne Wirkung, auch es stellt sich in die Richtung der Schleifen ein, zieht sich an dem Ende, mit welchem es dem Pol zugekehrt ist, spitz aus und verliert seinen Längsspalt; es nimmt für kurze Zeit eine keulenförmige Gestalt an (Fig. 27), die es nach Freiwerden der Chromatinschleifen wieder mit seiner früheren V-förmigen vertauscht (Fig. 29).

Während der letzten Periode bleibt das accessorische Chromosom offenbar nicht untätig in der Spermatocyte liegen, sondern es beteiligt sich aktiv an den physiologischen Vorgängen in der Zelle. Schon seine chromosomenähnliche Gestalt mit der rauhen Oberfläche zu Beginn des Bukettstadiums (Fig. 26) ließ darauf schließen, daß irgend eine Substanzveränderung in ihm stattfände, denn einen derartigen bürstenförmigen Besatz findet man stets bei Auf- oder Abbau der Chromosomen. Bilder wie Fig. 28 zeigen deutlich, welcher Art die Tätigkeit des accessorischen Chromosoms ist: es stößt einen oder mehrere kleine chromatische Nucleolen aus, die hier zum erstenmal in der Geschlechtszelle auftreten. Bisher war kein Nucleolus zu sehen gewesen. Als nucleolusartiger Körper lag einzig und allein das accessorische Chromosom in der Zelle.

Bei dieser Stoffabgabe vermindert sich für kurze Zeit die Färbbarkeit des accessorischen Chromosoms, doch nimmt diese bald wieder zu und zeigt sich ungeschwächt in allen Spermatocyten, in denen sich der oder die Nucleolen bereits von dem accessorischen Chromosom getrennt haben.

Die Nucleolen erhalten sich bis in die frühe Prophase der I. Reifeteilung. Hier verschwinden sie schließlich.

Nach der Substanzabgabe kontrahiert sich das accessorische Chromosom, das wieder ganz die alte Gestalt zeigt (Fig. 31). Diese Kontraktion gewinnt mit dem Wiedersichtbarwerden der Chromosomen ihren Höhepunkt; es hat sich zu einem kurzen dicken Körper zusammengezogen (Fig. 32). Erst bei der letzten Ausbildung der Reifungschromosomen tritt es aus seiner Trägheit heraus; die beiden Schenkel weichen auseinander und seine Schleifenform, die es seit der jungen Spermatocyte abgelegt hatte, kommt von neuem zum Ausdruck (Fig. 33).

In der Prophase der I. Reifeteilung unterscheidet es sich von den Autosomen erstens durch sein kompaktes, glattes Äußere und zweitens durch das Fehlen jeglichen Längs- oder Querspaltes. Beide sind an den Tetraden der Autosomen sehr wohl zu sehen. In der Metaphase erscheinen auch die Autosomen kompakt, ihre Tetradenform wird verwischt, doch hebt sich jetzt das accessorische Chromosom einmal durch seine Größe, dann ferner durch seine isolierte Lage ab. Wie es in der ruhenden Sper-

matogonie und der wachsenden Spermatocyte seinen Platz möglichst abseits der Masse der Chromosomenfäden in der Nähe der Kernmembran suchte, so liegt es auch hier außerhalb der Äqatorialplatte, entweder seitlich gelagert oder einem der Spindelpole beigesellt (Fig. 34). Es geht ungeteilt in eine der beiden Tochterzellen über, während die andere leer ausgeht. Dies Verhalten ist zwar altbekannt, aber dennoch muß es überraschen, da man bei den Orthopteren in der Regel die I. Reifeteilung als Reduktionsteilung ansieht und man vermuten sollte, daß das accessorische Chromosom, das schon aus den Tagen der jungen Spermatogonie einen bivalenten Aufbau besitzt, jetzt seine beiden Komponenten von einander lösen würde. Von alledem geschieht nichts, sondern es bleibt ungeteilt. Zur Bildung eines besonderen Karyomeriten, wie dies von Baumgartner (1904), Stevens (1905), Gutherz (1907), Brunelli (1908) und Buchner (1909) beschrieben wird, kommt es hier ebensowenig wie in den Spermatogonien.

Es ist vielleicht nicht unangebracht, das Verhalten des accessorischen Chromosoms während der Spermatogonien- und der Spermatocytenentwicklung einander kurz gegenüberzustellen. In den Spermatogonien besitzt es noch, soweit es einheitlich auftritt, auf allen Stadien die offene Schleifenform. Es wird wie die Autosomen in der Anaphase längs geteilt, gibt dann in der Telophase sein Chromatin fast vollkommen ab, so daß es kaum mehr sichtbar ist. Es gewinnt darauf bald wieder seinen Chromatinreichtum und liegt lange vor Ausbildung der Autosomen als starkes Chromosom in der ruhenden Spermatogonie. Obgleich es bereits so zeitig angelegt wird, rückt es doch bei der Teilung hinter den Autosomen her.

In der Spermatocyte nimmt das accessorische Chromosom an der Auflockerung der aus der letzten Spermatogonienteilung übernommenen Autosomen nicht nur keinen Anteil, sondern es verhält sich gerade den Autosomen entgegengesetzt. Diese ziehen sich in feinste Fäden aus, das accessorische Chromosom kontrahiert sich zu einem dicken Klumpen. Mit dem Erstarken der Chromosomenschleifen geht das accessorische Chromosom in eine gestreckte funktionsfähige Gestalt über. Es erreicht den sichtbaren Höhepunkt seiner Tätigkeit, sobald sich die Schleifen frei im Kern verteilen. Während diese allmählich verblassen, kontrahiert es sich zum zweiten Male und zeigt bis zur Metaphase nur geringe Formveränderung. Während der I. Reifeteilung rückt es ungeteilt in die eine Tochterzelle. In den Spermatogonien verhält sich also das bivalente accessorische Chromosom noch ähnlich den Autosomen mit der Ausnahme, daß es bedeutend früher angelegt und einen Augenblick später geteilt wird, in der Spermatocyte dagegen weicht Form und Verhalten des accessorischen

Chromosoms vollkommen von dem der Autosomen ab, doch scheint in den Wachstumsstadien eine Korrelation zwischen den beiden Chromatingebilden zu bestehen, derart, daß mit der Auflockerung, also der Chromatinabgabe der Autosomen, eine Kontraktion, also eine Verdichtung des accessorischen Chromosoms Hand in Hand geht, andrerseits das Erstarken der Autosomen von einer Chromatinabgabe des accessorischen Chromosoms begleitet wird.

e) Spermatocyten II. Ordnung und Spermatiden.

Über die II. Reifeteilung vermag ich nichts weiter auszusagen, als daß irgend welche Besonderheiten nicht zu bemerken waren. Das accessorische Chromosom verschwindet zwischen den Autosomen, wird daher wohl ebenfalls geteilt. Die Chromosomenzahl war hier nicht mehr zu ermitteln.

Die jungen Spermatiden zerfallen in zwei Kategorien, solche mit großem Chromatinnucleolus und solche, denen jeder Nucleolus fehlt (Fig. 36a und b). Der Schluß, in ersteren die Nachkömmlinge der Spermatocyten II. Ordnung mit accessorischem Chromosom zu erblicken, während die letzteren von den Spermatocyten stammen, die kein accessorisches Chromosom enthielten, dürfte kaum fehl gehen. Der Chromatinnucleolus der Spermatiden ist meist kugelig, manchmal auch hantelförmig gestreckt. Bei der Umwandlung der Spermatiden in Spermatozoen löst er sich auf.

Größere Mengen degenerierter Spermatozoen waren im normalen Hoden nicht zu finden.

IV. Allgemeiner Teil.

Wenn Robertson (1908) in seiner Nachprüfung der Spermatogenese von *Syrbula* einem Acridier, bei dem Montgomery (1905) ein paariges Heterochromosom gefunden zu haben glaubte, die bis dahin vorliegenden Ergebnisse über die Wertigkeit des accessorischen Chromosoms in die Worte zusammenfaßt: it might be said, that no workers upon the Orthoptera except Montgomery himself, have ever found this element to be a bivalent structure, so trifft dieses Urteil auch heute noch auf die Ordnung der Orthopteren mit wenigen Ausnahmen zu. Fast alle Autoren sind sich darin einig, daß das Heterochromosom der Gradflügler ein accessorisches, d. h. ein unpaares univalentes ist. Nur die Gruppe der Forficuliden macht anscheinend eine Ausnahme, da bei ihnen die Stelle des unpaaren accessorischen Chromosoms von paarigen Heterochromosomen

vertreten wird. Bei den zweifelhaften verwandtschaftlichen Beziehungen, die zwischen den einzelnen Unterordnungen der Orthopteren bestehen, kann uns jedoch diese Abweichung der Forficuliden nicht weiter wundernehmen. Für alle übrigen Orthopteren bleibt jedenfalls nach der Ansicht der meisten Autoren das univalente accessorische Chromosom charakteristisch.

Über die Spermazellen mit accessorischem Chromosom herrscht nun fast durchweg die Anschauung, daß dem Männchen der Partner des unpaaren Chromosoms fehlt. Es besitzt daher nur $n—1$ Chromosomen, wohingegen das Weibchen n Chromosomen aufweist. Die reife Eizelle verfügt danach über $\frac{n}{2}$, die Spermatozoen teils über $\frac{n}{2}$, teils über $\frac{n}{2}—1$ Chromosomen. Das Ei mit der ersteren Spermatozoenart befruchtet, liefert ein Individuum mit n Chromosomen, also ein Weibchen, mit der zweiten ein solches mit $n—1$ Chromosomen, also ein Männchen, so daß die Chromosomenzahl, falls man die Verhältnisse beim Männchen auf das Schwinden eines Chromosoms zurückführt, in der gewünschten Weise gewahrt bleibt.

Nur zwei Forscher sprachen sich neuerdings gegen die behauptete Univalenz des accessorischen Chromosoms der Orthopteren aus, Gross (1912) und Buchner (1909, 1910). Gross hat zwar selbst keine Orthopteren auf ihre Spermatogenese hin untersucht, sondern zieht seine Schlüsse auf Grund seiner Befunde an *Syromastes* (1904) und *Pyrrhocoris* (1906) zweier Rhynchoten. Entgegen den Resultaten Wilsons (1909) und seiner Schüler hält Gross auch in seiner neuen zusammenfassenden Arbeit über die Heterochromosomen und Geschlechtsbestimmung bei Insekten (1912) an seiner früheren Meinung fest, wonach sich bei *Syromastes* ein paariges Heterochromosom findet, das sich bis zur I. Reifeteilung wie die Autosomen benimmt. In der I. Reifeteilung liegt das Paar etwas abseits von den Tetraden der Autosomen, wird aber geteilt, in der II. Reifeteilung dagegen geht jedes Heterochromosom ungeteilt nur in eine Spermatide. Es kommt also auch hier zu dem gleichen Effekt, wie bei dem typischen accessorischen Chromosom, die eine Hälfte der Spermatozoen erhält ein Heterochromosom, die andre entbehrt es. Natürlich erfordert ein derartiges, paariges Auftreten der Heterochromosomen in der unreifen männlichen Keimzelle eine andre Chromosomenzahl für das väterliche Spermatozoon als bei der Annahme eines univalenten accessorischen Chromosoms. Auch das männliche Geschlecht muß hiernach die volle, gerade Zahl von Chromosomen enthalten, deren Geschick sich in der uns hier interessierenden Frage nur dadurch von dem der Eizellchromosomen unterscheidet,

daß bei einem Chromosomenpaar die eine Reifeteilung wegfällt. Es kommt also sowohl zur Bildung von Spermatozoen mit $\frac{n}{2}$ wie mit $\frac{n}{2}-1$ Chromosomen, aber nur die ersten dürfen befruchtungsfähig sein, denn nur sie enthalten den vollen Chromosomenbestand. GROSS zieht auch diesen Schluß aus seinen Resultaten und läßt die Hälfte der Spermatozoen untergehen, obgleich mikroskopische Bilder bei seinem Objekt für diese Annahme nicht vorliegen.

Einmal durch die Befunde an *Syromastes* und *Pyrrhocoris* in Gegensatz mit der herrschenden Bewertung des accessorischen Chromosoms gebracht, überträgt GROSS seine Theorie auch auf die Orthopteren und findet außer den von BUCHNER angegebenen Fällen selbst bei den Autoren, die für die Univalenz des accessorischen Chromosoms eintreten, in Text und Abbildungen viele Belege für die Doppelwertigkeit, die besonders in den Wachstumsphasen der Spermatocyten häufig durch eine quere Einschnürung angedeutet wird. Seiner Anschauung gibt er mit den Worten Ausdruck: »Wir sehen also, daß das accessorische Chromosom auch bei den Orthopteren nur scheinbar unpaar ist. De facto findet sich auch hier immer ein Paar solcher.«

Während GROSS das accessorische Chromosom rein auf Grund seiner Morphologie als ein zweiwertiges Gebilde erklärt, veranlaßt BUCHNER vor allem das physiologische Verhalten zur Annahme der Duplizität. Für GROSS ist es ein Chromosom mit herabgesetzter Aktivität, die es einen großen Teil seiner Zeit untätig in der arbeitenden Zelle verbringen läßt, für BUCHNER der Hauptträger des trophischen Chromatins, von dem es sich während der Wachstumsphase der Spermatocyte befreit. Es stößt während dieser Zeit sein trophisches Chromatin in das Plasma aus.

Am eingehendsten studierte BUCHNER dieses Verhalten an *Oedipoda*. In den Spermatogonien war kein abweichendes Chromosom zu entdecken. Erst in den jungen Spermatocyten tritt es in Erscheinung, und zwar schnürt es sich vor dem Bukettstadium des Kernes in zwei Teile, die beide einen langen Fortsatz nach dem Schleifenpol senden. Diese Fortsätze werden durch das abströmende Trophochromatin bewirkt, und zwar zehrt diese Tätigkeit das eine Teilstück des accessorischen Chromosoms bis auf einen später verschwindenden Nucleolus vollständig auf, das andre Teilstück dagegen bleibt nach teilweiser Substanzabgabe erhalten und wird in der II. Reifeteilung längsgeteilt. BUCHNER sieht daher »in dieser Erscheinung den Hinweis darauf, daß das accessorische Chromosom (Monosom) kein einwertiger Körper ist, wie man bisher allgemein angenommen hatte, sondern ein bivalenter mit ungleichwertigen Kompo-

nenten«. Die Bivalenz drückt sich nicht nur in dem Dualismus des Chromatins aus (Tropho- und Idiochromatin), der durch Ausstoßung des ersteren während des Wachstumsstadiums beseitigt wird, sondern auch in dem Aufbau des Monosoms aus zwei Chromosomen. Die eine Komponente enthält nur Trophochromatin und wird deshalb vor der I. Reifeteilung aufgelöst, die andre Komponente enthält beide Chromatinarten, sie geht nach erfolgter Reinigung in die Reifeteilung ein. Da sie jetzt nur einwertig ist, kann sie von der Reduktionsteilung, die ganze Chromosomen trennt, nicht betroffen werden; sie macht nur die zweite, die Äquationsteilung mit. Was Buchner veranlaßt, auch die sich auflösenden Komponente als Chromosom anzusehen, ist der Umstand, daß auch sie während des Bukettstadiums einen Chromatinfortsatz zum Schleifenpol sendet, worin er ein Privileg der Chromosomen erblickt.

Während also nach Gross und meinen Befunden auch das anscheinend unpaare accessorische Chromosom der I. Reifeteilung ein bivalenter Körper ist, ist es nach der Buchnerschen Anschauung ein univalentes Gebilde geworden, genau wie es die Mehrzahl der Autoren für seine ganze Erscheinungsdauer behauptet. Die Buchnersche Deutung läßt dabei die Herkunft des rein trophischen Chromosomenpartners, der in der Spermatocyte aufgebraucht wird, unerklärt.

Was nun bei *Diestrammena* vor allem für die Ableitung des accessorischen Chromosoms von einem ursprünglich paarigen, bzw. von zwei Chromosomen spricht, ist nicht sein Verhalten in der Spermatocyte, sondern das häufige Vorhandensein der zwei stabförmigen Teilstücke in den jungen Spermatogonien mit allen Übergängen zur einheitlichen Chromatinschleife, die sich in den letzten Spermatogoniengenerationen schließlich allein vorfindet, eine Erscheinung, die mit der These, daß das Heterochromosom mit der Generationshöhe der männlichen Keimzelle immer stärker zutage tritt, sehr gut übereinstimmt.

Daß dieses Doppelgebilde in den Spermatogonien nicht etwa die Verschmelzung zweier Nucleolen oder eines Nucleolus mit einem Chromosom vorstellt, geht schon daraus hervor. daß bis zur Teilung dieser Körper keinerlei Substanzeinbuße erleidet, wie wir es bei einem derartig kombinierten Aufbau erwarten müßten und wie es ja auch so häufig für die Spermatocyten beschrieben wurde. Bei diesen lösen sich, falls der Doppelkörper aus der Verschmelzung von Plastosom und accessorischem Chromosom entstanden ist, die beiden Teile vor oder während der Mitose wieder von einander los. Stevens (1905) schildert ein derartiges Verkleben eines Plastosoms mit einem Chromatinelement bei *Blatta* auch für das Ruhestadium der Spermatogonien. Hier tritt nur der chromatische

Teil als accessorisches Chromosom in die Mitose ein, das Plastosom verschwindet vorher. (Wassilieff [1907], der diese Angaben nachprüfte, konnte übrigens den Übergang der einen Hälfte des recht kompliziert gebauten Doppelnucleolus in die Äquatorialplatte nicht bestätigen.) Bei *Diestrammena* dagegen wird in den Spermatogonien die Chromatinschleife immer kräftiger und kompakter und teilt sich erst in der Anaphase, ganz wie ein echtes Chromosom, ohne daß es vorher einen Teil seiner Substanz verloren hätte.

Für die Bivalenz des accessorischen Chromosoms von *Diestrammena* kommt ferner seine Form und Größe in Betracht. Alle Autosomen sind stabförmig, es allein ist schleifenförmig und von etwa der doppelten Länge der größten Autosomen, ganz wie man es erwarten muß, denkt man es sich aus einem Paar dieser Autosomen entstanden. Allerdings paßt diese Charakteristik nicht auf alle Orthopteren so vorzüglich. Wohl besitzt es dort, wo es in den Mitosen der Spermatogonien zu erkennen war, meistens Schleifenform, aber dies trifft nicht immer zu, wie z. B. das riesige accessorische Chromosom von *Orphania* (de Sinéty 1901) zeigt, das die Gestalt eines längs gespaltenen Stabes besitzt, während die Autosomen U-förmig sind. Auch als guter Beleg dafür, daß die Größe des accessorischen Chromosoms vollständig aus dem Rahmen der Autosomen herauszufallen vermag, kann *Orphania* dienen. Sieht man hieraus, daß Form und Größe nicht bei allen Orthopteren für seine bivalente Abstammung den Beweis liefern, so besagt selbstredend Stabform oder überwiegende Größe auch nichts Gegenteiliges, denn daß ein festes Aneinanderpressen der U-Schenkel einen längsgespaltenen Stab vortäuschen kann, davon gab uns das accessorische Chromosom der Spermatocyte von *Diestrammena* ein gutes Bild. Die beiden mit einander verschmolzenen Komponenten rekrutieren sich zwar nicht bei allen Orthopteren aus den größten Chromosomen, doch besitzen sie stets ansehnliche Dimensionen, so daß ihre Größe allgemein für ihre Bivalenz spricht.

Eine Zusammenstellung der meisten Orthopterenarbeiten, die absichtlich und unabsichtlich für eine Duplizität des accessorischen Chromosoms Zeugnis ablegen, gab, wie schon erwähnt, Gross (1912). Fast alle diese Angaben beziehen sich auf das Wachstumsstadium der Spermatocyten. Da nun während dieser Periode die verschiedensten Materialumwälzungen im accessorischen Chromosom stattfinden, Verschmelzungen mit Plastosomen oder Lostrennungen solcher wiederholt beschrieben wurden und eine genaue Verfolgung aller Phasen häufig nicht vorliegt, so möchte ich diesen Bildern keine allzu große Bedeutung für unsre Frage beimessen. Nur zwei Fälle greife ich davon heraus. Davis (1908) fand

als Abnormität in einem Hoden von *Arphia tenebrosa* in den Wachstumsstadien der Spermatocyten stets zwei accessorische Chromosomen. Leider bietet Text und Abbildung keinen Anhalt für die Größe dieser Doppelgebilde im Vergleich zum normalen Monosom. In diesem Hoden zeigte sich die Duplizität des accessorischen Chromosoms aber auch bereits in den Spermatogonien, denn Davis zählte hier an Stelle der sonst für die Acridier charakteristischen 23 Chromosomen 24. Es ist danach wahrscheinlich, daß in diesem Individuum aus irgend welchen Gründen die Verschmelzung der beiden Chromosomen zum Monosom nicht stattfand, so daß hier der ursprüngliche Zustand erhalten blieb. Dann gehören hierhin die Befunde Montgomerys (1905), der in den Spermatogonien von *Syrbula acuticornis* zwei Heterochromosomen nachwies. Durch die Untersuchungen Robertsons (1908) an *Syrbula admirabilis* werden zwar diese Resultate in Zweifel gezogen, doch scheint nach den angeführten Fällen ein Differieren zwischen Arten, ja selbst Individuen in bezug auf das Verschmelzen der beiden Schenkel des accessorischen Chromosoms sehr wohl möglich. Hieran möchte ich eine Angabe von Stevens (1905) reihen, diese fand in den Spermatogonien von *Stenopelmatus*, einer nahen Verwandten unserer Art, 46 Chromosomen, also eine gerade Zahl, die ebenfalls auf ein Getrenntbleiben der beiden Chromosomenkomponenten schließen läßt. Zählungen an den Reifeteilungen wollten ihr nicht glücken, so daß diese Probe auf das Exempel fehlt. Immerhin bleibt ein solches Ergebnis gerade bei einer Stenopelmatide beachtenswert. Dies sind die drei mir zur Kenntnis gelangten Fälle, bei denen ein paariges accessorisches Chromosom in den Spermatogonien von Orthopteren zur Beobachtung kam. Von den Angaben über Ruhestadien mit Chromatinverdichtungen, die mit dem accessorischen Chromosom in Beziehung stehen mögen, ohne daß jedoch ihre Rolle ermittelt werden konnte, sehe ich hier ab.

Zwei Abbildungen (Fig. 28 und 29), die Pinney (1908) von den Spermatocyten I. Ordnung von *Phrynotettix magnus* gibt, sollen noch kurz gestreift werden. Bei dieser Art liegt zwischen den beiden Reifeteilungen ein Ruhestadium, während dem sich die Chromosomen auflockern. Die beiden Bilder stellen zwei Stadien der Telophase der I. Reifeteilung dar. Das langgestreckte accessorische Chromosom, kompakter wie die Autosomen, weist eine tiefe, es fast ganz durchschnürende Querfurche auf, so daß hier die endweise Verbindung der beiden Komponenten sowie ihre voraussichtliche Querteilung in der folgenden II. Reifeteilung klar zum Ausdruck kommt. *Phrynotettix* liefert also in ihrer Vorbereitung zur II. Reifeteilung ein Bild, wie es einem accessorischen Chromosom entspricht, das nach dem Typus von *Diestrammena* gebaut ist.

Die angeführten Beispiele zeigen uns, daß immerhin manche Angaben vorliegen, die für ein paariges accessorisches Chromosom sprechen, wenn dies auch längere Zeit über in der Spermatocyte unpaar erscheint. Gross hat in seiner Arbeit (1912), in der er für die Paarigkeit aller Monosomen bei Insekten eintritt, die Gründe für und gegen seine Theorie eingehend erörtert, so daß ich mich in diesem Punkte kurz fassen kann, zumal ich nicht so weit gehen möchte, die Bivalenz auf alle Monosomen auszudehnen, denn einmal haben uns die Untersuchungen von Boveri (1912) und Schleip (1912) an *Angiostomum nigrovenosum* gezeigt, daß die männliche Chromosomenzahl durch Entfernung eines Chromosoms aus der Hälfte der Spermatocyten erreicht wird, hier also nicht auf einer Verschmelzung zweier Chromosomen beruhen kann, und ferner sprechen die Befunde Mulsows (1912) an einem andern Nematoden (*Ancyracanthus cystidicola*) deutlich dafür, daß die Spermatozoen mit $\frac{n}{2}-1$ Chromosomen ebenfalls befruchtungsfähig sind. Die äußerst klaren und einfachen Chromosomenbilder dieser Ovo- und Spermatogenese, sowie der ersten Furchungsteilungen lassen sich nur in diesem Sinne deuten. Was für Nematoden nachgewiesen ist, darf aus theoretischen Gründen für Insekten nicht kurzweg von der Hand gewiesen werden, besonders da die Arbeit Morrils (1910) über den Chromosomencyklus einiger Rhynchoten zwar große Lücken aufweist, aber doch verschiedene Anhaltspunkte für die Befruchtungsfähigkeit der beiden Spermatozoensorten gibt. Es scheint mir daher, daß genau so wenig, wie sich die Reifeteilungen alle in das gleiche Schema einreihen ließen, trotz anfänglicher, großer Anstrengungen in dieser Richtung, sondern schließlich die Postreduktion und die Präreduktion beide als zu Recht bestehend anerkannt werden mußten, auch die Entstehung des accessorischen Chromosoms nicht nur auf eine einzige Weise erfolgen kann. Nach den bis jetzt vorgebrachten Meinungen können wir drei verschiedene Typen für die Schaffung der ungeraden Chromosomenzahl unterscheiden:

1. durch Ausstoßung eines Chromosoms (*Angiostomum*, Boveri, Schleip 1912),
2. durch stete Reduktion des einen Partners bis zu seinem gänzlichen Schwund (*Nezara*, *Lygaeus*, *Protenor*, Wilson 1906),
3. durch Verschmelzen zweier Chromosomen,
   a) von denen nur das eine in die Reifeteilungen eintritt, das andre aber vorher aufgelöst wird (*Oedipoda*, Buchner 1909),
   b) die beide in die Reifeteilungen eintreten aber in einer ungeteilt bleiben (*Syromastes*, Gross 1912, *Diestrammena*).

Die ersten beiden Typen bieten zur Erklärung der Chromosomenzahlen keine Schwierigkeiten, auf die Schwierigkeiten des Typus 3a wurde schon oben hingewiesen, 3b dagegen fügt sich ebenfalls unschwer in das Chromosomenbild ein, wenn man die Spermatozoen mit der ungraden Chromosomenzahl ausschaltet und annimmt, daß die beiden Heterochromosomen beim Weibchen getrennt bleiben, während sie beim Männchen verschmelzen. Bei dieser Annahme ergeben sich dann freilich keine deutlich erkennbaren Verschiedenheiten zwischen den einzelnen befruchtungsfähigen Spermatozoen, und der Ausschlag, ob nach der Befruchtung eine Verschmelzung oder ein Getrenntbleiben erfolgt, kann mit gleichem Recht außerhalb wie innerhalb des in die Eizelle eingeführten Heterochromosoms gesucht werden. Ein geringer Unterschied zwischen den Partnern war zwar bei *Diestrammena* in den Spermatogonien zu bemerken, was eventuell einer Verschiedenwertigkeit der Spermatozoen zugut geschrieben werden könnte. Das Hindernis, welches die paarigen accessorischen Chromosomen der Geschlechtsbestimmung bieten, dürfte daher, wenn man einmal Anhänger dieser Theorie ist, zu überwinden sein, denn die Schwierigkeiten liegen weniger darin, diese Chromosomen mit den Anschauungen über ihre Beziehungen zum Geschlecht in Einklang zu bringen, als die morphologischen Befunde an den Keimzellen in Übereinstimmung mit der zu fordernden Konstanz der Chromosomenzahl zu deuten, da sie die Hilfshypothese von der Befruchtungsunfähigkeit der einen Hälfte der Spermatozoen erfordert. Immerhin hat die neuere Keimzellforschung so viele derartige Fälle nachgewiesen, daß diese Theorie, wenigstens für verschiedene Arten, das Stadium der Hypothese überschritten hat. (Aphiden, v. Baehr 1909, *Phylloxera*, Morgan 1909, *Angiostomum*, Boveri 1911, Schleip 1911. Pteropoden, Zarnik 1911.)

Die drei aufgestellten Typen erklären zwar das Zustandekommen der ungeraden Chromosomenzahl bei den Männchen, nicht aber das abweichende Verhalten des accessorischen Chromosoms im Entwicklungsgang der männlichen Keimzelle. Montgomery (1910) sieht den Grund für diese Abweichung in dem Fehlen eines Partners oder in der Verschiedenheit der Partner, diese ist jedoch, soweit sie morphologisch hervortritt, bei *Diestrammena* so gering, daß sie kaum in Betracht kommen dürfte. Gross (1912) spricht von einer Inaktivität des Chromatins der Heterochromosomen und führt als Stütze die allgemein verbreitete Anschauung an, daß die aktive Periode des Chromatins in die Zeit der sogenannten »Kernruhe« fällt, während der das Chromatin im Kern fein verteilt ist, wohingegen das zu Chromosomen kondensierte Chromatin nur eine Teilungsformation darstellt und in dieser Form inaktiv ist. In einem solchen

Zustand befinden sich aber auch die Heterochromosomen, die hierdurch die Inaktivierung ihres Chromatins zu erkennen geben. Ferner spricht noch für ihre Inaktivität das Fehlen der Größenzunahme im Gegensatz zu den Autosomen und der Ausfall der Längsteilung. Die beiden letzten Charakteristica treffen für unser Objekt in keiner Weise zu. Sowohl in den Spermatogonien zwischen zwei Teilungen wie auch in der Spermatocyte wächst das accessorische Chromosom beträchtlich heran, hauptsächlich in die Breite, d. h. es häuft Chromatin in sich an. Eine Längsteilung findet sehr wohl statt, und zwar wiederholt in den Spermatogonien. Gross hatte bei seiner Behauptung wohl nur die Reifeteilungen im Auge und hier sprechen meine Ergebnisse ebenfalls gegen eine Längsteilung, aber in den Spermatogonien tritt bei *Diestrammena* das accessorische Chromosom schon so scharf hervor, daß man die Charaktere während dieser Periode nicht unbeachtet lassen darf, einer Inaktivierung im Grossschen Sinne möchte ich daher nicht beistimmen. Dagegen kann ich mich der Überzeugung nicht verschließen, daß wir es hier mit einem Chromosom zu tun haben, das sich im Laufe der Keimzellentwicklung einem Funktionswechsel unterzieht und sich dabei der Funktion und dem Bau eines Nucleolus stark nähert, eine Auffassung, der ja auch Buchner (1909 und 1910) und Goldschmidt (1910) insoweit nicht ferne stehen, als beide dem accessorischen Chromosom ein andres Chromatin zusprechen als den Autosomen. Freilich habe ich nach meinen Bildern keinen Anlaß, den beiden Komponenten verschiedenen Wert zuzuerkennen und sich die eine auflösen, die andre fortbestehen zu lassen, wie es Buchner tut, sondern beide Partner bleiben erhalten, zeigen aber andere Funktion als die Autosomen. Dies tritt schon deutlich in den Spermatogonien zutage, noch schärfer allerdings später in den Spermatocyten während ihres Wachstums.

Man hat das häufige Fehlen des Nucleolus in der männlichen Keimzelle mit dem Ausfall der Produktion von Nährstoffen für das kleine und im Ei aufgehende Spermatozoon in Verbindung gebracht, aber einerseits ist das Wachstum der Spermatocyte, bei der die Heterochromosomen ja stets am stärksten hervortreten, recht bedeutend und andrerseits besitzen sonst gerade die noch wenig differenzierten, embryonalen Gewebe, wie sie die unreifen Keimdrüsen darstellen, recht große Nucleolen, so daß ihr Fehlen hier befremden muß. Schon der Name, Chromatinnucleolus, den Montgomery (1898) zuerst den Heterochromosomen auf Grund ihres Aussehens in der ruhenden Zelle gab, weist auf ihre Ähnlichkeit mit diesem Gebilde hin, vor allem aber spricht die wiederholt erwähnte Verschmelzung mit Nucleolen oder gar die Einlagerung in den Nucleolus,

wie sie z. B. Payne (1909) von *Prionidus cristatus* schildert und abbildet, für ihre verwandtschaftlichen Beziehungen. Nun zeigen aber die Beobachtungen besonders bei Eizellen, daß der Nucleolus dann chromatinreich ist, wenn das Chromatin der Autosomen fein im Kern verteilt ist, also aktiv wirkt, daß er dagegen beim Auftauchen der Chromosomen, d. h. sobald sich diese von ihrer produktiven Tätigkeit zurückziehen. nach und nach verschwindet. Er liefert der Zelle während dieser Zeit das für den Stoffwechsel nötige Material und wird dabei aufgebraucht. Ebenso verhält sich, worauf ich oben schon hinwies, das accessorische Chromosom der Spermatocyte nur mit dem Unterschied, daß es mit seiner Funktion als Chromatinreservoir noch die zweite eines Trägers der Vererbungssubstanz vereinigt. Als solcher geht es nach Erfüllung der ersten Funktion in die Reifeteilungen ein, ist aber offenbar in seinem Gefüge so stark verändert, daß sich im Verlauf der Teilungen manche Abweichungen von den Autosomen ergeben.

Ich sehe also in dem accessorischen Chromosom von *Diestrammena* einen Träger des Idiochromatins, der in der Spermatocyte während der Bildung der Autosomen noch außerdem bestimmte trophische Funktionen übernommen hat. Das accessorische Chromosom ist daher qualitativ wie quantitativ bivalent. Sein Aufbau läßt sich zwar mit der Beziehung zum Geschlecht in Einklang bringen, liefert jedoch nach dem Stand unsrer heutigen Kenntnis keine wesentliche Stütze für diese Theorie.

V. Zusammenfassung.

Die Kerne aller Spermatogonien sind blasenförmig, Karyomeritenbildung findet nicht statt.

In den jungen Spermatogonien trifft man häufig die beiden Komponenten des accessorischen Chromosoms noch getrennt, in den älteren sind sie stets zu einer Schleife vereinigt.

Das accessorische Chromosom ist in den Spermatogonien stets sichtbar. Es gibt in der Telophase fast all sein Chromatin ab, nimmt aber dann schnell wieder an Chromatingehalt zu. In der Ruhephase liegt es als kräftige Chromatinschleife im Kern nahe der Kernmembran.

In der Mitose behält das accessorische Chromosom seine Schleifenform bei, während die Autosomen Stabform besitzen.

Das accessorische Chromosom wird gleich den Autosomen längs geteilt, hinkt aber bei der Teilung etwas hinter ihnen her.

Die Zahl der Chromosomen in der Spermatogonie beträgt 57. Das accessorische Chromosom wird von der jungen Spermatocyte in seiner Schleifenform übernommen.

Während sich die Autosomen nach der letzten Spermatogonienteilung auflösen, bleibt das accessorische Chromosom als stark kontrahierter zweischenkliger Chromatinkörper im Kern erhalten.

Mit dem Bukettstadium streckt sich das accessorische Chromosom wieder in die Länge, nähert sich der Form der Chromatinschleifen und stößt einen oder mehrere Nucleolen aus. Nach dieser Tätigkeit kontrahiert es sich wieder.

Autosomen und accessorisches Chromosom verhalten sich in den Wachstumsphasen der Spermatocyte bezüglich der Schwankungen ihres Chromatingehaltes diametral entgegengesetzt.

In der I. Reifeteilung geht das accessorische Chromosom ungeteilt in die eine Tochterzelle über. Die eine Hälfte der Spermatocyten II. Ordnung erhält daher 28, die andre 29 Chromosomen.

Ein Teil der Spermatiden besitzt einen chromatischen Nucleolus, dem andern Teil fehlt er.

Literaturverzeichnis.

Artom, C. 1909. Cromosomi ed eterocromosoma nelle cinesi spermatogenetiche di »Stauronotus maroccanus« Thunb. Biologica. Vol. II.

v. Baehr, W. B. 1909. Die Ovogenese bei einigen viviparen Aphiden und die Spermatogenese von Aphis saliceti mit besonderer Berücksichtigung der Chromatinverhältnisse. Arch. f. Zellforsch. Bd. III.

Baumgartner, W. J. 1904. Some new evidences for the individuality of the chromosomes. Biol. Bull. Vol. VIII.

Boveri, Th. 1912. Über das Verhalten der Geschlechtschromosomen bei Hermaphroditismus. Beobachtungen an Rhabditis nigrovenosa. Verh. Phys. Med. Ges. Würzburg. Bd. XLI.

Brunelli, G. 1908. La spermatogenesi del »Gryllus desertus«. Pall. Atti Acad. Lincei Mem. Vol. VII.

Buchner, P. 1909. Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese der Orthopteren, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Reduktion. Arch. f. Zellforsch. Bd. III.

—— 1910. Zur Bedeutung der Heterochromosomen. Arch. f. Zellforsch. Bd. V.

Davis, H. S. 1908. Spermatogenesis in Acrididae and Locustidae. Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard Coll. Vol. LIII.

Gerard, P. 1909. Recherches sur la spermatogénèse chez Stenobothrus biguttulus (Linn.). Arch. Biol. T. XXIV.

Goldschmidt, R. 1910. Kleine Beobachtungen und Ideen zur Zellenlehre. 1. Accessorisches Chromosom und Geschlechtsbestimmung. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI.

Granata, L. 1910. Le cinesi spermatogenetiche di Pamphagus marmoratus Burm. Arch. f. Zellforsch. Bd. V.

Gross, J. 1904. Die Spermatogenese von Syromastes marginatus. Zool. Jahrb, Anat. Bd. XX.

—— 1906. Die Spermatogenese von Pyrrhocoris apterus L. Ebd. Bd. XXIII.

—— 1912. Heterochromosomen und Geschlechtsbestimmung bei Insekten. Ebd. Allg. Zool. u. Physiol. Bd. XXXII.

Gutherz, S. 1907. Zur Kenntnis der Heterochromosomen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXIX.

Mc. Clung, C. E. 1900. The spermatocyte divisions of the Acrididae. Kans. Univ. Quart. Vol. IX.

—— 1902. The spermatocyte divisions of the Locustidae. Kans. Univ. Sc. Bull. Vol. I.

—— 1905. The chromosome complex of orthopteran spermatocytes. Biol. Bull. Vol. IX.

—— 1908. The spermatogenesis of Xiphidium fasciatum. Kans. Univ. Sc. Bull. Vol. IV.

Montgomery, T. H. jr. 1898. The spermatogenesis in Pentatoma up to the formation of the spermatid. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XII.

—— 1901. A study of the chromosomes of the germ cells of Metazoa. Trans. Amer. phil. Soc. Vol. XX.

—— 1905. The spermatogenesis of Syrbula und Lycosa with general considerations upon chromosomereduction and the heterochromosomes. Proc. Acad. nat. Sc. Philad. Vol. LVII.

—— 1910. Are particular chromosomes sex determinants? Biol. Bull. Vol. XIX.

Morgan, T. H. 1909. A biological and cytological study of sex determination in Phylloxerans and Aphids. Journ. exper. Zool. Vol. VII.

Morril, C. V. 1910. The chromosomes in the oogenesis, fertilization and cleavage of Coreid Hemiptera. Biol. Bull. Vol. XIX.

Mulsow, C. 1912. Der Chromosomencyclus bei Ancyracanthus cystidicola Rud. Arch. f. Zellforsch. Bd. IX.

Nowlin, W. N. 1908. The chromosome complex of Melanoplus bivittatus Say. Kans. Univ. Sc. Bull. Vol. IV.

Otte, H. 1907. Samenreifung und Samenbildung bei Locusta viridissima. Zool. Jahrb., Anat. Bd. XXIV.

Payne, F. 1909. Some new types of chromosome distribution and their relation to sex. Biol. Bull. Vol. XVI.

Pinney, E. 1908. Organization of the chromosomes in Phrynotettix magnus. Kans. Univ. Sc. Bull. Vol. IV.

Robertson, W. R. B. 1908. The chromosome complex of Syrbula admirabilis. Ebd. Vol. IV.

Schleip, W. 1911. Über die Chromatinverhältnisse bei Angiostomum (Rhabdonema) nigrovenosum. Ber. naturf. Ges. Freiburg i. B. Bd. XIX.

—— 1912. Geschlechtsbestimmende Ursachen im Tierreich. Ergebn. u. Fortschr. d. Zool. Bd. III.

de Sinéty, R. 1901. Recherches sur la biologie et l'anatomie des Phasmes. Cellule. T. XIX.

Stevens, N. M. 1905. Studies in spermatogenesis with especial reference to the "accessory chromosome". Carnegie Inst. Washington Publ. Vol. XXXVI.

Sutton, W. S. 1900. The spermatogonial divisions in Brachystola magna. Kans. Univ. Quart. Vol. IX.

—— 1903. On the morphologie of the chromosome group in Brachystola magna. Biol. Bull. Vol. IV.

Wassilieff, A. 1907. Die Spermatogenese von Blatta germanica. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX.

Wilson, E. B. 1906. Studies on chromosomes III: The sexual differences of the chromosome group in Hemiptera with some considerations on the determination and inheritance of sex. Journ. exper. Zool. Vol. III.

—— 1909. IV.: The "accessory chromosome" in Syromastes and Pyrrhocoris with a comparative review of the types of sexual differences of the chromosome groups. Ebd. Vol. VI.

Zarnik, B. 1911. Über den Chromosomencyclus bei Pteropoden. Verh. deutsch. Zool. Ges.

Tafelerklärung.

Alle Figuren wurden in Objekttischhöhe mit dem Zeichenapparat entworfen (Zeiss' Immersion 2 mm, Kompens.-Ocular 18). Nur die Fig. 20, 33 und 35 geben die Autosomen in ihrer vollen Zahl wieder, bei allen übrigen ist der Klarheit wegen nur ein Teil der Autosomen eingezeichnet. $x =$ accessorisches Chromosom.

Tafel XXIII.

Fig. 1. Zelle des Hodenschlauches in Prophase.

Fig. 2. Versonsche Zelle.

Fig. 3—9. Spermatogonien I. Ordnung.

Fig. 10—13. Junge Spermatogonien II. Ordnung im »Ruhestadium«, das paarige accessorische Chromosom in verschiedenen Phasen der Verschmelzung.

Fig. 14—21. Spermatogonien II. Ordnung.

Fig. 14. Späte Telophase.

Fig. 15 u. 16. »Ruhestadium«.

Fig. 17—19. Prophase.

Fig. 20. Metaphase.

Fig. 21. Anaphase.

Tafel XXIV.

Fig. 22—35. Spermatocyten I. Ordnung.

Fig. 22. Junge Spermatocyte. Die Chromosomen der letzten Spermatogonienteilung sind noch sichtbar.

Fig. 23. Das Chromatin verteilt sich im Kern.

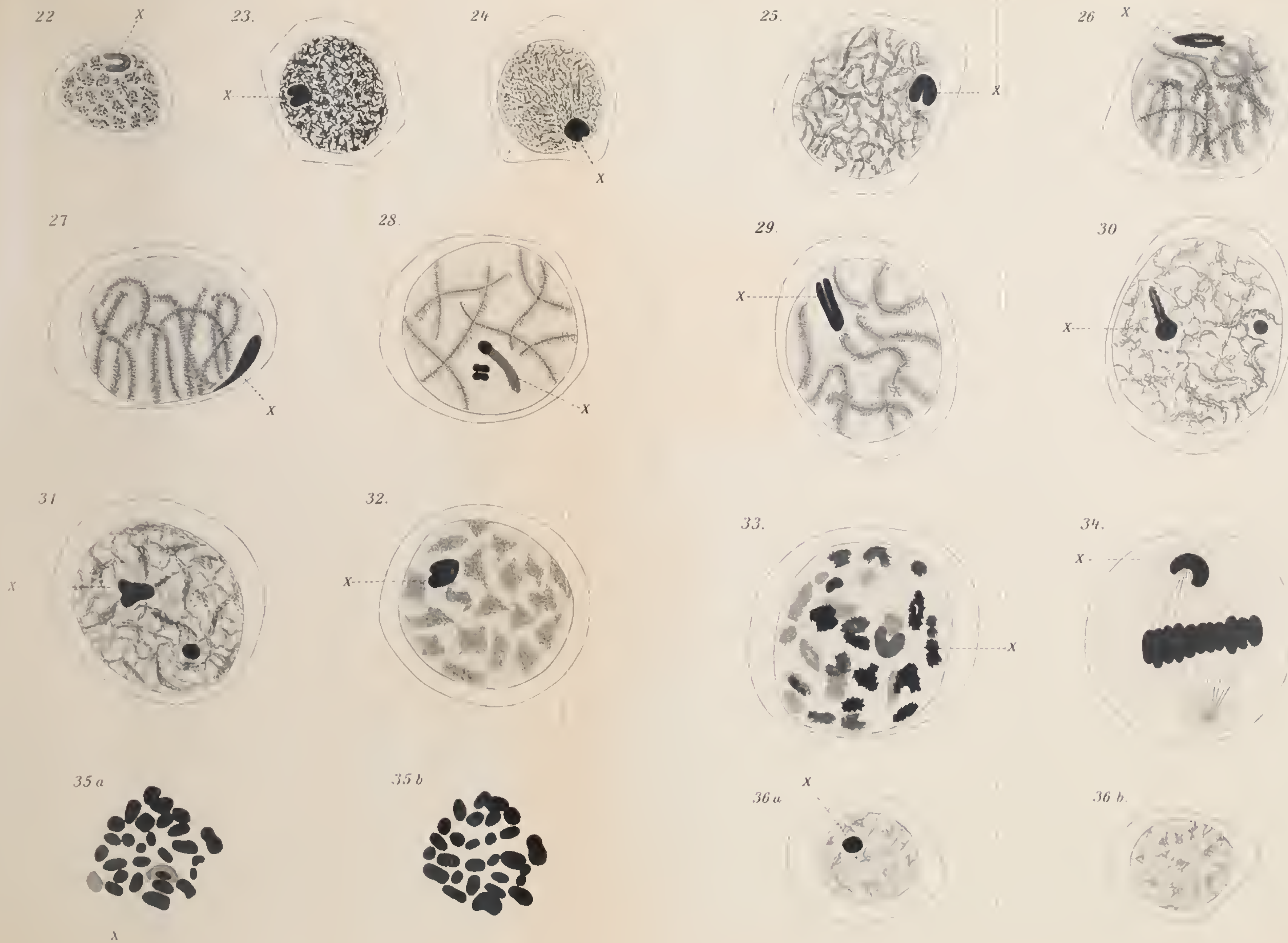
Fig. 24. Leptotänstadium.

Fig. 25. »Synapsisstadium«.
Fig. 26. Beginn des Bukettstadiums.
Fig. 27. Bukettstadium.
Fig. 28 u. 29. Die Chromatinschleifen verteilen sich im Kern.
Fig. 30 u. 31. Wiederauftauchen der Chromosomen.
Fig. 32 u. 33. Prophase der I. Reifeteilung.
Fig. 34. Metaphase der I. Reifeteilung.
Fig. 35. Anaphase der I. Reifeteilung (Die grau gefärbten Chromosomen von 35*a* sind aus dem folgenden Schnitt ergänzt).
Fig. 36. Spermatiden.





A. Schellenberg gez.
Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin
Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.


22
X
23.
X
24
X
25.
X
26
X
27
X
28.
X
29.
X
30
X
31
X
32.
X
33.
X
34.
X
35 a
X
35 b
36 a
X
36 b.

Note citologiche sulle cellule somatiche dell'ovaio dei Mammiferi.

Di

Giuseppe Levi
(Sassari).

Con Tavole XXV—XXVI.

Le cellule follicolari e quelle della teca interna dell'ovaio dei mammiferi si prestano mirabilmente, nonostante il loro piccolo volume, all'analisi citologica, ed i metodi di colorazione dei condriosomi riescono in esse facilmente.

Nella convinzione che la via migliore per la conoscenza della natura e del significato dei condrosomi, sia lo studio di questi organuli nelle varie fasi della vita cellulare, ho voluto analizzare citologicamente le cellule somatiche dell'ovaio nella loro riproduzione e differenziazione, studiando l'evoluzione delle cellule follicolari in luteiniche e quella della teca interna nei cosidetti elementi interstiziali (o midollari).

Il metodo al quale mi attenni di preferenza fu quello stesso che fu da me adottato in altre ricerche: fissazione in liquido Maximow così modificato:

Bicromato potassico	2,5	gr.
Sublimato	5	gr.
Acqua dist.	100	cc.

A 10 ccm di questa miscela si aggiungono al momento di adoperarla cc. 2 di formolo e cc. 2 di tetrossido di osmio 2%. In questa miscela i pezzi rimangono per 2—3 giorni; lavaggio in acqua corrente per 1 ora; imbianchimento delle sezioni col metodo Rubaschkin e colorazione coll'ematossilina ferrica.

Gli altri metodi che vengono più frequentemente usati per la colorazione dei condriosomi, quello di Regaud e di Benda, mi diedero risultati meno perfetti. Molto interessanti riescirono i risultati dell'osservazione a fresco su ovaie di feti di *Bos taurus* e di *Sus scrofa;* queste hanno riaffer-

mato in me il convincimento che le imagini rilevabili col metodo di fissazione al quale diedi la preferenza son quelle che più si avvicinano alla realtà.

I. Cellule dell'epitelio ovarico. Cellule epiteliali dei cordoni corticali e midollari dell'ovaio.

La struttura del citoplasma di questi elementi fu ben studiata da Rubaschkin, 912. Winiwarter e Sainmont, 912, non ne parlano, ma raffigurano minute granulazioni che risiedono in prossimità del nucleo.

Regand e Policard, 901, hanno visto nelle cellule dei cordoni midollari delle goccioline colorabili col metodo Weigert, simili a quelle contenute nelle cellule della granulosa (vedi più oltre).

Rubaschkin, 912, ha descritto nelle cellule dell'epitelio germinativo, in quelle della corticale e della midollare di embrioni e feti di Cavia, durante tutte le fasi dell'istogenesi di quest'organo, dei condrioconti tortuosi; tale caratteristica delle suddette cellule somatiche permetterebbe di distinguerle agevolmente dagli oogoni e dagli oociti, il citoplasma dei quali contiene esclusivamente mitocondri granulari. Si aggiunga che la stessa differenza fra cellule somatiche e sessuali fu dall'A. osservata anche nel corpo genitale indifferente e nel testicolo; essa avrebbe molta importanza per lo studio della via germinale, quando si consideri che dalle osservazioni di Winiwarter e Sainmont, 902, risulta che le giovani cellule sessuali, ma sopratutto gli oogoni, non possiedono altri caratteri che diano a questi elementi un'impronta citologica specifica.

Le mie osservazioni su ovaie di feti e di neonati sono limitate ad un feto di *Bos taurus* di 19 cm di lungh., ad un feto di *Sus scrofa* della stessa lunghezza, ad un feto di *Bos taurus* quasi a termine ed ad una coniglia di 5 giorni di vita extrauterina.

Tutte le cellule dei cordoni corticali e midollari ed anche quelle dei cordoni della 3° proliferazione (nella coniglia) contenevano condrioconti lunghi, sottili e sinuosi indipendentemente dal grado di sviluppo del l'organo; va fatta eccezione soltanto per gli ovociti più grandi con rivestimento follicolare, il citoplasma dei quali conteneva soltanto mitocondri granulari ben diversi dai condrioconti delle cellule follicolari [1]).

[1]) Non essendo mio proposito di occuparmi nella presente memoria delle cellule sessuali, tralascio di discutere se veramente cellule epiteliali ed oogoni abbiano le identiche caratteristiche citologiche, come affermano Winiwarter e Sainmont, limitandomi a constatare il disaccordo fra i miei risultati e quelli di Rubaschkin. Dalle mie osservazioni risulta infatti, che tanto gli oogoni che le cellule epiteliali contengono nel citoplasma condrioconti assai sottili e sinuosi, e così pure i giovani oociti con «noyaux deutobroques» dei cordoni corticali; i condrioconti sembrano divenire più tozzi e più brevi soltanto nell'ulteriore accrescimento dell'oocite. L'apparato mitocondriale acquista forma prevalentemente granulare più tardi, quando l'oocite è circondato da un epitelio follicolare.

Del resto ricerche mie antecedenti 912 avevano già dimostrata infondata, almeno per i gonociti di Anfibî, la distinzione citologica stabilita da Rubaschkin, 912.

Le cellule dell'epitelio ovarico di feti e di neonati son assai piccole e perciò poco adatte al nostro studio; ciononostante vi si distinguono condrioconti tortuosi, ma diretti da un estremo all'altro della cellula.

Belle imagini si osservano invece nell'epitelio ovarico di Chirotteri adulti; ivi i condrioconti son lisci, nettamente individualizzati, e formano un groviglio alla base della cellula, decorrono poi paralellamente all'asse maggiore, ma con andamento tortuoso ed irregolare, nell'esile straterello di citoplasma che riveste il nucleo, ed infine formano una seconda matassa più estesa e più cospicua della prima al disopra del nucleo, senza però spingersi sino alla faccia libera della cellula; cosicchè fra quest'ultima e la matassa sovrannucleare vi è una sottile zona libera da condrioconti.

Anche nelle cellule cilindriche dei cordoni midollari (solidi o cavi) dell'ovaio dell'adulto, sviluppatissimi specialmente nei Chirotteri (van Beneden 880), i condrioconti sono pure tortuosi e spesso s'intrecciano al polo superiore del nucleo, ad una certa distanza dall'orlo libero della cellula (fig. 1). — Quando invece le cellule dei cordoni midollari hanno una forma molto allungata, i condrioconti possono essere quasi rettilinei, e diretti paralellamente all'asse maggiore della cellula; anche in questi elementi i condrioconti convergono presso l'estremità interna un po' assottigliata del corpo cellulare, intrecciandosi fra di loro.

II. Cellule follicolari.

Il primo cenno su formazioni condriosomiche nelle cellule della granulosa lo troviamo nella nemoria di R. ed L. Zoja, 891, sui plastiduli: «Nell'ovaio di un feto di Cavia a metà sviluppo, le cellule dell'epitelio germinativo hanno plastiduli piccoli, di solito raccolti alla base; le cellule uovo primordiali hanno invece pochi plastiduli sparsi più grossi. Simile differenza è pure fra le cellule epiteliali e le uova nei tubi di Pflüger . . .

Nei più piccoli follicoli del Graaf i plastiduli sono numerosi, piccoli, molto spesso a gruppetti, quasi uniformemente distribuiti nelle cellule della granulosa e del disco ovigero (fig. 16). Sviluppandosi il follicolo appaiono nelle cellule della granulosa vescicole chiare, i plastiduli son più sparsi».

Nella figura i plastiduli appaiono in forma di granuli o di bastoncini cortissimi. Benda, 901, ha potuto colorire col suo metodo nelle cellule follicolari dell'ovaio di topo delle granulazioni simili a quelle descritte dai fratelli Zoja, che hanno le stesse proprietà di quelle dell'oocite e che l'A. definisce come mitocondrì.

Regaud e Policard, 901, col metodo Weigert per la mielina hanno colorito nell'epitelio follicolare delle goccioline, le quali non danno la reazione del grasso e che si formerebbero nel citoplasma a spese di materiali tratti dal connettivo ambiente; la sostanza di cui esse son costituite passerebbe nell'oocita in una forma chimica diversa, poichè il metodo suddetto non permette di distinguerla nella zona pellucida.

Il confronto fra le figure di Zoja e di Benda da un lato e quelle di Regaud e Policard dall'altro ci convince che le due formazioni non son paragonabili; è però

possibile che le vescicole ritenute da questi ultimi come goccie di secreto siano invece mitocondri alterati da una fissazione inadeguata (bicromato acetico).

Ricordo ancora l'osservazione di Loyez, 905, per quanto essa riguardi soltanto le cellule follicolari dell'ovaio di Uccelli, sulla presenza di un accumulo di filamenti (e non granuli) intrecciati fittamente in prossimità del nucleo.

Van der Stricht, 905, ha confermato nell'epitelio follicolare e nel disco proligero del follicolo di donna la presenza di condriomiti e mitocondri condensati presso il nucleo (che è un po'eccentrico) intorno ad una sfera attrattiva contenente un corpuscolo centrale; nel restante citoplasma i mitocondri son più sparsi. In realtà vi è una certa discordanza fra la descrizione e la figura, perchè da quest'ultima apparirebbe che si trattasse di condrioconti lisci anzichè di mitocondri.

Russo nelle sue memorie sui mitocondri dell'oocite si è occupato ripetutamente delle stesse formazioni nelle cellule follicolari; nel 909 raffigura negli elementi che circondano i follicoli a 2—3 piani di cellule, delle masse irregolari colorabili in azzurro col metodo Benda, negli elementi della zona radiata di follicoli vescicolosi invece, lunghi filamenti rettilinei. Da una figura dal 1910 dello stesso Autore sembrerebbe che i mitocondri nel digiuno acquistino l'aspetto di filamenti brevi, intrecciati, localizzati a quella parte della cellula follicolare che intercede fra nucleo e zona pellucida. Riguardo poi al loro valore funzionale, Russo ritiene che il materiale mitocondriale sia ceduto all'oocite attraverso alla zona pellucida.

Secondo Comes, 908, nelle cellule che rivestono i piccoli follicoli, i granuli mitocondriali formano due cumuli, l'uno sovrastante, l'altro sottostante al nucleo; la quantità di questi granuli varia in rapporto all'attività secretoria della cellula. Nei follicoli polistratificati si trova solo il gruppo di granuli sottostante al nucleo. Oltre a queste granulazioni colorabili coll'ematossilina ferrica, che definisce come mitocondri, l'A. ha visto anche grosse gocciole lipoidi; queste verrebbero a mancare nel follicolo maturo.

Nella memoria di Retzius, 912, sui rapporti anatomici fra cellule follicolari ed oocite nei vertebrati, nelle prime sono raffigurate granulazioni e filamenti a contorno sfumato.

Nella pubblicazione di Rubaschkin, 912, della quale ci siamo più sopra occupati, viene fatto cenno brevemente dei condriosomi filamentosi che caratterizzano le cellule della granulosa di follicoli pluristratificati.

Per i miei studi sulle cellule follicolari in riposo ed in mitosi mi servii di ovaie di Coniglia e *Cavia* adulte e di 1—2 mesi di vita extrauterina, inoltre di individui adulti di *Mus musculus*, di *Felis domestica* e di varie specie di Chirotteri (*Vespertilio murinus*, *Vespertilio* Blasii, *Rhinolophus euriale*, *Miniopterus* Schreiberii); per lo studio della partecipazione dei condriosomi alla mitosi, superiore ad ogni altro si dimostrò il materiale di *Cavia*. Nei follicoli primordiali a cellule pavimentose, quando le cellule follicolari si presentano di profilo nelle sezioni, i condrioconti sono addensati nelle due esigue linguette di citoplasma situate ai poli del nucleo; e sono tanto compatti, che a stento si possono analizzare i singoli filamenti; qualche condrioconto si trova anche nel sottile velo di citoplasma che ricopre il nucleo, il che risulta evidente quando queste cellule si presen-

tano all'osservatore da una delle faccie. Quando la cellula follicolare aumenta di altezza, il groviglio di condrioconti diviene naturalmente assai più lasso; e nelle cellule cilindriche con nucleo basale dei follicoli monostratificati (fig. 2), i condrioconti son sempre tortuosi, ma prevalentemente orientati lungo l'asse maggiore e nella regione di citoplasma sovrastante al nucleo formano talora, ma non sempre, un intreccio complicato, simile a quello che abbiamo visto nell'epitelio ovarico. Questa stessa struttura si conserva nello strato superficiale dei follicoli a due piani di cellule, mentre negli elementi profondi, che son di solito più piccoli dei primi ed a forma ovale, i condrioconti non sembrano avere orientazione alcuna.

Senza diffondermi in troppi minuti particolari sulle varietà di aspetti coi quali si può presentare il condrioma nelle cellule dei follicoli polistratificati e vescicolosi, mi basti di rammentare che in queste ultime i condrioconti son forse un po' meno fitti che nelle cellule follicolari cilindriche dei piccoli follicoli e non formano un intreccio in una regione determinata; si riceve l'impressione che nelle cellule dei follicoli vescicolosi il condrioma sia costituito da filamenti anche più lunghi che negli altri, ma in numero scarso e complicatamente aggrovigliati ed anzi talora dubitai che si trattasse di un unico filamento, e che l'apparente discontinuità dipendesse dalla difficoltà di seguirlo in tutta la sua lunghezza in sottili sezioni; in quanto alla loro orientazione, essa è indeterminata nelle cellule globose, tendono a disporsi paralellamente all'asse maggiore nelle cellule ovali o piriformi, pur restando i condrioconti assai sinuosi (fig. 4, 21). Nelle sezioni equatoriali i condrioconti appaiono naturalmente frammentati. È tale il polimorfismo delle cellule parietali dei grandi follicoli vescicolosi, che sarebbe troppo lungo, ed anche inutile, il descriverne minutamente l'intima costituzione; per ricordare una delle varietà più comuni, in una delle cellule della fig. 4, noi vediamo una cellula con un lungo peduncolo clavato, nella quale i condrioconti appaiono compressi nella parte ristretta del peduncolo, per divenire di nuovo sinuosi nella clava.

Nelle cellule peduncolate che costituiscono la cosidetta zona radiata, i condrioconti son ben distinti anche nel sottile prolungamento il quale s'insinua nell'interno della membrana pellucida dell'ovocita; il fatto è apprezzabile soltanto nelle sezioni che colpiscono tangenzialmente questa membrana (ed in tal caso i condrioconti appaiono sezionati trasversalmente); quando invece la pellucida è colpita di profilo dal taglio, i prolungamenti delle cellule follicolari non si distinguono colla tecnica da me usata (fig. 5).

I condrioconti sono costantemente lisci e perfettamente individualizzati dal citoplasma, il quale in questi elementi colla fissazione da me adoperata appare omogeneo; nei buoni preparati mai ho osservato nè granulazioni, nè file di granuli (condriomiti); quelli che potevano sembrare tali si rivelano ad un esame attento come sezioni trasverse di filamenti; con una certa frequenza ho osservato invece degli anelli isolati od inseriti all'apice di un filamento.

Che la forma di condriosoma filamentoso, quale appariva nei miei preparati, sia quella che meglio corrisponde alla realtà, è dimostrato oltre che dalla sua costanza nei preparati, che per altri criteri potevo considerare ben fissati, anche dai risultati delle indagini a fresco. In ovaie di feto di bue dissociate in liquidi isotonici ho potuto più volte apprezzare, specialmente nel rivestimento epiteliale dei piccoli follicoli esaminati in superficie, dei filamenti, i quali colla luce artificiale apparivano splendenti; a differenza che nei preparati fissati, i filamenti (fig. 6) erano rigidi, ma io attribuisco questo loro aspetto al fatto che nell'osservazione sulle cellule viventi i condrioconti non possono esser seguiti in tutta la loro lunghezza e perciò se ne presentano all'osservatore soltanto dei frammenti, i quali nel tratto che cade sotto gli occhi hanno un decorso rettilineo[1]).

Il condrioma non subisce adunque modificazioni sostanziali nelle numerosissime generazioni di cellule follicolari che intercedono dai follicoli ad un solo strato di cellule a quelli maturi; ed a proposito di questi ultimi (poichè finora ho parlato di grandi follicoli vescicolosi, ma non di quelli maturi), mi son chiesto se il condrioma si modifichi, poco prima dello scoppio.

---

[1]) La convergenza fra le imagini ottenute nel vivente e dopo fissazione giustifica la preferenza da me data dopo lunghi tentativi ad un metodo; per la stessa ragione risparmio al lettore la descrizione dei vari aspetti sotto cui si presenta il condrioma delle cellule follicolari quando esso fu imperfettamente conservato. — Ma non insisterò mai abbastanza sulla grande labilità del condrioma di fronte a metodi inadeguati, perchè ad essa attribuisco molti errori nei quali alcuni Autori sono incorsi nello studio del condrioma. Anche senza mutare il liquido fissatore, basta diminuire la quantità di acido osmico e di formolo, e basta che la penetrazione del liquido non avvenga uniformemente in tutto il pezzo, perchè questo è troppo voluminoso, per produrre alterazioni dei condrioconti; questi possono assumere la forma di bastoncini corti e tozzi, di grosse granulazioni, di catene di granuli, di ammassi irregolari o più spesso di vescicole. Escludo che tali modificazioni dipendano da variazioni funzionali della cellula, perchè quando la fissazione era ben riescita, ben poche erano le cellule follicolari nelle quali il condrioma non fosse costituito da filamenti lisci ed uniformi. Talora, se il pezzo era voluminoso, ma ben fissato, gli artefatti erano limitati a poche regioni.

In un follicolo quasi maturo di *Rhinolophus* avrei invero osservato che i condrioconti sono un po' più frammentati e più fitti che in follicoli pure assai grandi ma meno vicini allo scoppio (fig. 7); il che sarebbe interessante, perchè farebbe supporre che la differenziazione della cellula follicolare in luteinica, la quale è caratterizzata appunto, come vedremo, da una frammentazione del condrioma, s'inizia prima ancora della deiscenza del follicolo.

Ma gli altri follicoli maturi (nella fase immediatamente antecedente alla rottura), che ebbi occasione di esaminare, essendo riesciti meno ben fissati, non poterono venire utilizzati per un tale confronto; perciò il reperto suddetto resta isolato e non potrei dargli un gran valore.

Da quanto ho detto appare, che io non posso confermare l'esistenza di processi di secrezione morfologicamente apprezzabili nelle cellule follicolari; ed io son convinto che i granuli che furono interpretati dagli Autori citati come l'esponente di un processo secretorio, non fossero che condrioconti mal fissati e conglutinati.

Poche parole ancora sulla capsula centrale (che molti Autori impropriamente definiscono come sfera attrattiva, fra gli altri van der Stricht, 905); il metodo da me adoperato non era certo il più adatto per mettere in evidenza questa formazione e nella maggior parte delle cellule essa non era apprezzabile; ma talora, e con maggior frequenza nelle cellule dei follicoli monostratificati, ho notato presso il nucleo, nella regione che sta fra il suo polo superiore ed il contorno dell'ovocita, un piccolo corpicciuolo sferico, il quale non era mai invaso dal condrioma; non si notava un'orientazione determinata dei condrioconti intorno ad esso.

Ho rivolto in particolar modo la mia attenzione al comportamento dei condriosomi nella mitosi di queste cellule; sin dall'inizio della profase i lunghi filamenti della cellula in riposo si frammentano in molti segmenti, i quali però conservano il loro andamento flessuoso, per quanto meno spiccato, e s'intrecciano in tutte le direzioni; in conseguenza del turgore notevole del nucleo, che caratterizza l'inizio della profase, questi filamenti restano compressi ed addensati in un alone sottile di citoplasma, come appare dalle sezioni mediane della cellula (fig. 21); mentre nelle sezioni tangenziali (fig. 8) si vede qualche condrioconto nel sottile velo citoplasmatico sovrastante al nucleo.

Non appena la membrana nucleare si dissolve, i condrioconti si avvicinano rapidamente all'ammasso dei cromosomi, e poichè d'altro canto l'estensione del citoplasma è aumentata, i condrioconti appaiono disseminati sopra una maggior superficie; sono sempre sinuosi e senza orientazione veruna.

All'inizio della metafase i condrioconti occupano tutto il citoplasma (fig. 10), ma quando si riesce a distinguere il fuso, i condrioconti vengono nuovamente respinti verso la periferia (fig. 11); è legge costante che essi non invadono mai, nè ora nè più tardi, l'area occupata dal fuso, il quale è adunque impenetrabile per i condrioconti; il fatto è particolarmente evidente nelle figure in cui il piano di sezione coincide coll'asse del fuso, mentre in quelle tangenziali i condrioconti son sovrapposti al fuso ed ai cromosomi.

All'inizio dell'anafase, quando i due gruppi di cromosomi sdoppiati si avvicinano ai poli, i condrioconti incominciano a spostarsi gradatamente verso il piano equatoriale (fig. 4, 12) alla periferia del fuso, risparmiando ora come prima, la regione occupata da quest'ultimo. La migrazione dei condrioconti avviene gradatamente e lentamente, tanto che anche quando la distanza che separa i due gruppi polari di cromosomi è divenuta più grande, si trova ancora qualche filamento nelle due regioni polari (fig. 13).

Quando tutti i condrioconti si sono portati nel piano equatoriale, essi sono confinati nelle ristretta area di citoplasma che circonda il fuso; e da questo momento da sinuosi che erano s'irrigidiscono e si orientano paralellamente all'asse del fuso; i vari condrioconti non subiscono tutti contemporaneamente una modificazione di direzione, ma anche questo fenomeno, come i precedenti, è graduale (fig. 13). Ma quando, come nella fig. 14, lo strozzamento equatoriale si è già iniziato, tutti i condrioconti son disposti paralellamente all'asse del fuso.

Contemporaneamente allo strozzamento del citoplasma ed all'assottigliamento del fuso, avviene una divisione trasversale dei condrioconti in due metà approssimativamente eguali a livello del piano equatoriale.

La divisione suddetta interessa dapprima i condrioconti più periferici, i quali abbandonano subito il piano equatoriale; ma quando lo strozzamento equatoriale è assai inoltrato ed il fuso assottigliato, avviene la divisione di quelli situati più profondamente, che aderiscono intimamente al residuo fusoriale: la divisione dei filamenti superficiali è invero difficilmente dimostrabile, ed è assai dubbio che essa li interessi tutti.

Dalla fig. 14, la quale riproduce una sezione tangenziale all'asse del fuso, risulta evidente che prima che i condrioconti più profondi si siano divisi, è digià avvenuta la divisione dei più superficiali, non solo, ma questi hanno già abbandonato il piano equatoriale. La fig. 15 riproduce una fase assai vicina alla precedente, ma qui al sezione coincide coll'asse del fuso, cosicchè non appaiono all'osservatore i condrioconti ancora indivisi sovrapposti al residuo fusoriale.

La fig. 16, che è tangenziale rispetto all'asse del fuso, dà un'imagine molto dimostrativo della divisione trasversa dei condrioconti più profondi, ed in particolar modo la fig. 17, la quale non riproduce invero una cellula follicolare, bensì un elemento della »teca interna« di un follicolo atresico, dei quali ci occuperemo in un altro capitolo; in quest'ultima i condrioconti più profondi divisi in due metà coincidono tuttora coi loro estremi, mentre quelli più superficiali che si son divisi antecedentemente, hanno perduta la loro orientazione e tendono a spostarsi verso i poli della cellula.

Le fig. 18—21 illustrano infine le ultime fasi della condriocinesi; nelle fig. 18 e 19, in cui la sezione coincide coll'asse del residuo fusoriale (nel quale si vede un corpo intermedio) anche i condrioconti più profondi incominciano ad abbandonare il piano equatoriale e nella fig. 20, nella quale è pur tuttora visibile il residuo fusoriale col corpo intermedio, tutti i condrioconti delle due cellule figlie hanno riacquistato un tragitto sinuoso.

L'analogia fra il comportamento tattico dei condrioconti nella cinesi delle cellule follicolari (ed anche di quelle della teca interna), e quello che da altri Autori fu dimostrata nelle divisioni di maturazione degli spermatociti, è invero grandissima.

Per ricordare soltanto la dimostrazione più recente, ed anche più completa, della partecipazione dei condrioconti alla divisione cellulare, mi riferirò alle ricerche di Terni, 912, sulle divisioni di maturazione degli spermatociti di *Geotriton fuscus.* In queste divisioni, come nelle mitosi delle cellule follicolari, si nota la migrazione dei condrioconti nel piano equatoriale, il loro orientamento paralellamente all'asse del fuso e la divisione trasversale dei medesimi.

Durante la profase il loro comportamento è diverso nell'uno e nell'altro caso, il che dipende dalla differente forma del condrioma nelle cellule in riposo; negli spermatociti non ha luogo all'inizio della profase la frammentazione dei lunghi condrioconti sinuosi che caratterizzano la cellula follicolare in riposo, per la semplice ragione che essi non sono lunghi e sinuosi come nella cellula follicolare in riposo, bensì rigidi e, relativamente al volume della cellula, brevi durante tutto il periodo auxocitario[1]).

Mentre adunque negli elementi sessuali maschili abbiamo qualche ragione per ritenere che i condrioconti abbiano veramente un'individualità, questa non può essere dimostrata per le cellule follicolari; e bisogna riconescere che la portata teoretica della divisione trasversale viene ad essere assai diminuita da questa circostanza.

---

[1]). Una memoria di Terni, nella quale il comportamento tattico dei condrioconti durante la cinesi degli spermatociti, viene più ampiamente documentato, è in corso di stampa in quest'Archivio.

Una seconda differenza è rappresentata dal fatto che la migrazione dei condrioconti verso il polo della cellula opposto all'idiozoma, osservata da Terni durante la profase, non avveniva nel nostro caso.

La coincidenza nei due processi è importante, se si riflette che le cellule le quali furono oggetto di questo studio appartengono agli elementi somatici; e per questi la partecipazione del condrioma alla cinesi è pressocchè sconosciuta.

La persistenza dei condrioconti durante la cinesi di cellule somatiche fu notata da Meves, 908, nei blastodermi di pollo ed in cellule del mesenchima di pulcini, 910, da Duesberg, 910, in elementi mesenchimali ed ectodermici di embrioni di pollo, da me, 911, in cellule degli abbozzi dei gangli spinali, nelle cellule dell'epitelio pigmentato della retina di embrioni, da Rubaschkin, 910, in vari elementi embrionali; particolarmente interessante mi sembra una telofase in una cellula mesenchimale riprodotta da Duesberg (fig. 8 del lavoro del 1910), nella quale un condrioconto tuttora indiviso, disposto perpendicolarmente al piano equatoriale, passa da una cellula all'altra.

Per quanto il processo cariocinetico non sia stato seguito da questi Autori, alcune fra le figure da loro riprodotte ci lasciano supporre che in molte cellule somatiche i condrioconti si comportino durante la mitosi in modo analogo che nelle cellule da me studiate, cioè vi partecipino attivamente. E questa conclusione, quando essa fosse sicuramente dimostrata, ci darebbe un nuovo importante criterio in favore dell'identificazione fra i condriosomi delle cellule somatiche e quelli delle cellule sessuali; identificazione sulla quale molti ricercatori hanno sollevati dei dubbi.

Ancora qualche parola sulle modificazioni citologiche osservate durante i processi regressivi di questi elementi. Nei follicoli nei quali si è iniziato un processo di atresia, chiaramente indicato dall'ispessimento della teca interna, si nota sovente una metamorfosi adiposa delle cellule follicolari; ebbene io ho notato che in questi elementi i condrioconti persistono anche quando il processo degenerativo è relativamente progredito.

Mi sembrò che il primo indizio di una degenerazione fosse la comparsa in queste cellule presso un polo del nucleo, che ha una sede eccentrica, nella cosidetta area polare, ove risiede la capsula centrale, di una grossa sfera omogenea, di aspetto ialino, piuttosto refrangente, che si colora in grigio coll'ematossilina ferrica.

In queste sfere ialine appare ben presto una piccola goccia di grasso (fig. 21) che ingrandisce rapidamente, invadendo una gran parte del citoplasma, e ricaccia verso la periferia i condrioconti; soltanto quando la degenerazione cellulare è molto avanzata, i condrioconti diventano tozzi,

poi si trasformano in grosse masse sferiche colorabili coll'ematossilina, finchè scompaiono. Altre volte, e specialmente nelle cellule in degenerazione vacuolare, i condrioconti si frammentano e si trasformano in granuli.

Trasformazioni del condrioma dipendenti da degenerazione della cellula si possono vedere anche negli elementi follicolari riversati nella tuba assieme all'uovo dopo la rottura del follicolo; in questi non mi sembrò frequente la degenerazione grassa, bensì piuttosto un graduale ispessimento dei filamenti del condrioma e la trasformazione successiva dei medesimi in masse sferiche rotondeggianti.

Anche in cellule follicolari nelle quali i processi degenerativi sono inoltrati, il che è chiaramente indicato dalla picnosi del nucleo, si distinguono ancora nel citoplasma dei granuli o delle masse di forma irregolare, che evidentemente derivano da trasformazione dei condrioconti.

Riassunto.

a) In tutte le cellule follicolari dell'ovaio dei Mammiferi, il condrioma si trova in forma di pochi filamenti lunghissimi, avvolti in maniera intricata; mai si vedono forme granulari (mitocondri). Quanto più cresce il volume della cellula, tanto più lassa diviene la matassa formata dai condrioconti.

Le formazioni che da altri Autori furono interpretate come granuli di secreto corrispondono molto probabilmente a condrioconti alterati dalla fissazione.

b) Durante la mitosi i condrioconti si comportano in queste cellule somatiche tatticamente come negli spermatociti:

Nella profase essi si frammentano in vari segmenti che restano flessuosi; quando la membrana nucleare si dissolve, i condrioconti si avvicinano ai cromosomi, ma durante la metafase vengono di nuovo respinti verso la periferia della cellula. Quando i gruppi di cromosomi sdoppiati si separano, i condrioconti emigrano a poco a poco verso il piano equatoriale, ove si sovrappongono al fuso, senza invadere la regione da quest'ultimo occupata, e più tardi si orientano paralellamente all'asse del fuso e s'irrigidiscono. — Contemporaneamente allo strozzamento della cellula ed all'assottigliamento del fuso, ha luogo una divisione trasversale dei condrioconti, che interessa dapprima i più superficiali, poi i più profondi, in due metà approssimativamente eguali, a livello del piano equatoriale. — Ma mentre la divisione dei condrioconti profondi è molto evidente, quella dei superficiali lo è assai meno, ed è dubbio che essa li interessi tutti.

c) Il condrioma delle cellule follicolari persiste immutato, anche quando la cellula va incontro a processi degenerativi; soltanto quando

le alterazioni cellulari sono molto inoltrate, i condrioconti si frammentano, oppure s'ispessiscono, e finiscono col trasformarsi in ammassi irregolari; la perdita della loro colorabilità coincide probabilmente colla morte della cellula. —

III. Cellule luteiniche.

Le nostre nozioni sulle caratteristiche citologiche, che conferiscono alla cellula follicolare l'impronta di cellula luteinica sono invero scarse. Secondo Sobotta, 896, al quale Autore noi dobbiamo la dimostrazione rigorosa dell'origine delle cellule luteiniche dall'epitelio follicolare, nel follicolo maturo le cellule hanno un piccolo volume, il che dipenderebbe dalle numerose divisioni che si succedono ininterrottamente nei follicoli vescicolosi senza grandi intervalli di riposo.

Subito dopo la rottura le cellule follicolari conservano l'impronta originaria, ma in una fase successiva, la quale coincide coll'invasione nell'interno del follicolo di fini tratti connettivi provenienti dalla teca interna, la cellula s'ipertrofizza; la deposizione del grasso in forma di goccie s'inizia verso il 3° giorno dopo il coito (nel topolino).

Alla metà della gravidanza le cellule luteiniche hanno raggiunto il volume massimo; l'ipertrofia del corpo cellulare è assai più spiccata di quella del nucleo. La deposizione del grasso si fa gradatamente, in misura maggiore col progredire dell'età del corpo luteo; essa è di solito limitata alla periferia del citoplasma, ma può anche estendersi alle parti profonde.

H. Rabl, 898, non si occupa delle prime fasi dell'evoluzione del corpo luteo, ma riferisce qualche dato importante sulla citologia della cellula luteinica a completo sviluppo; nelle cellule luteiniche della donna osservò, oltre alle note goccie adipose, dei granuli colorabili coi colori di anilina; si tratta evidentemente delle stesse formazioni che sono apprezzabili a fresco in forma di granulazioni sferiche, poco refrangenti. E prima ancora di H. Rabl, R. e L. Zoja, 891, avevano descritto delle granulazioni colorabili col metodo Altmann (plastiduli) grosse, tondeggianti, che gradatamente diminuiscono di numero nelle cellule più centrali, ove invece divengono più numerose le sferette adipose ed i granuli di pigmento.

Regaud e Policard, 901, hanno messo in evidenza nelle cellule luteiniche delle goccioline colorabili col metodo Weigert per le fibre mieliniche e che non sarebbero adipose; in quanto alla loro origine esse provverrebbero dall'attività metabolica della cellula. In un corpo luteo di riccio riscontrarono delle formazioni filamentose che ritengono di natura ergastoplasmatica.

Secondo Loisel, 905, la cellula luteinica produrrebbe due sostanze ben distinte: un pigmento, la luteina, ed una sostanza adiposa combinata colla lecitina.

Cohn, 903, descrive il protoplasma delle cellule luteiniche di coniglia (le quali provverrebbero tutte dall'epitelio follicolare) a 68 ore dopo il coito, come chiaro, a struttura finamente schiumosa; questa struttura dipende dalle dissoluzione di molte goccie contenute nella cellula.

Le goccie più tardi crescono di volume e di numero e raggiungono il massimo 5 giorni dopo il coito, contemporaneamente all'inserzione dell'uovo. L'ipertrofia delle cellule luteiniche raggiunge il suo apice all'8° giorno di gravidanza e si mantiene invariata sin quasi al termine della gravidanza.

Cohn è convinto che il grasso delle cellule lutineiche rappresenti un prodotto del metabolismo del citoplasma di natura secretoria.

Alla periferia del citoplasma si trovano oltre al grasso dei granuli colorabili.

Anche Pinto, 905, ha riscontrato in cellule luteiniche di donna delle goccioline di vario volume, le quali hanno reazioni microchimiche e tintoriali diverse dal grasso e che l'A. definisce come sostanza colloide trasparente.

C. Da Costa conferma l'esistenza di granuli colorabili nelle cellule luteiniche.

Kaiserling ed Orgler, 903, osservarono nelle cellule luteiniche delle goccioline birefrangenti e la loro presenza sarebbe in rapporto colla regressione del corpo luteo.

Mulon, 906, in sezioni di corpo luteo al 6—7 giorno dopo la fecondazione eseguite col metodo del congelamento e trattate successivamente coll'acido osmico, osservò grossi filamenti anneriti dall'acido osmico, disposti concentricamente al nucleo e che son molto simili a quelli delle cellule della surrenale. Più tardi questi corpi osmofili si moltiplicano e restano numerosi durante tutta la gravidanza; però nella seconda metà di questo periodo essi diminuiscono alquanto per far posto alle sfere di grasso.

Vastarini-Cresi, 904, ha riscontrato nelle cellule luteiniche di vacca la presenza dei canalicoli del trofospongio di Holmgren.

Cesa Bianchi, 907, distingue tre periodi nell'evoluzione della cellula luteinica; in un primo periodo, che vien definito come preparatorio, questi elementi non contengono granuli di sorta; in un secondo periodo appaiono nella parte centrale della cellula dei minuti granuli basofili albuminoidei disposti alla periferia dei vacuoli; all'esame a fresco le goccie adipose contenute in questi ultimi mascherano i primi.

In un terzo periodo infine i vacuoli invadono una gran parte della cellula risparmiando soltanto una stretta zona perinucleare. I granuli albuminoidei e quelli adiposi sarebbero geneticamente legati.

La differenziazione di tutti gli elementi del corpo luteo non avverrebbe contemporaneamente, ed anzi cellule giunte già al 3° periodo si troverebbero anche in corpi lutei di pochi giorni.

Quando la cellula ha espulso tutte le gocciole di lecitina, essa diminuisce di volume, i suoi contorni ritornano netti, il citoplasma diviene chiaro, omogeneo.

In quanto alla luteina, essa non avrebbe il valore di un prodotto di secrezione, ma essa sarebbe di origine ematica e verrebbe successivamente depositata nell'interno della cellula. I canalicoli del trofospongio sarebbero artefatti dipendenti da speciali condizioni fisiche del citoplasma.

Mulon, 909, ritiene che nella cellula luteinica per trasformazione dell'ergastoplasma si formi un grasso pigmentato.

Riquier, 910, ha dimostrato che le cellule luteiniche possiedono un apparato reticolare interno; questo si presenta con aspetti svariati ma ha costantemente una sede perinucleare; in quanto alla sua costituzione, sovente risulta di filamenti frammentati e discontinui, ma l'A. non è in grado di decidere se ciò dipenda da insufficiente colorazione dell'apparato.

L'A. si è sopratutto occupato della regressione delle cellule luteiniche ed in questo processo egli potè distinguere tre periodi, tenendo conto sopratutto del comportamento dell'apparecchio reticolare.

Nel 1° periodo le cellule son alquanto impicciolite, il nucleo è centrale e l'apparecchio reticolare è poco modificato; in un 2° periodo il nucleo diviene poco colorabile e l'apparecchio reticolare si frammenta; nel terzo periodo la cellula è diventata piccolissima, l'apparecchio reticolare è raggrinzato, spostato verso il polo opposto al nucleo.

Ciulla, 909, ha studiato le cellule luteiniche col metodo Ciaccio per i lipoidi; trovò in questi elementi dei granuli di pigmento grasso che si comportano come un

lipocromo e dei granuli di pigmento insolubili nei solventi del grasso. L'A. conclude per la natura lecitinica del grasso luteinico.

Ciaccio, 910, in un primo periodo dell'evoluzione del corpo luteo, distingue nelle cellule dei filamenti di ergastoplasma, dei granuli e delle sostanze grasse; i primi sono sopratutto caratterizzati dall'affinità per alcuni colori basici, come la pironina, i colori della serie delle tiazine, le lacche ematossiliniche. I granuli son ben visibili in materiale fissato in liquidi osmici o cromici e si colorano colla fuscina acida e con altri metodi; si presentano sotto due forme, di fini granuli seriati simili ai mitocondri oppure di granulazioni sparse che corrispondono a quelle descritte da Cesa-Bianchi.

Le sostanze grasse sono in questo periodo scarse nelle cellule centrali, più abbondanti nelle periferiche.

In una seconda fase si distinguono tre varietà di cellule: a) con protoplasma finamente granuloso, filamenti di ergastoplasma, granuli tingibili e scarse vescicole grasse o lipoidi, b) cellule con vescicole a contorno lipoide e scarsi granuli tingibili, c) cellule simili alle cosidette siderofile dell'interrenale, cioè con grosse granulazioni lipoidi e fra queste una sostanza che ha affinità per l'ematossilina ferrica.

In un'ultima fase il citoplasma è letteralmente infarcito di blocchi lipoidi e pigmentati; la cellula sarebbe in preda ad una degenerazione (metamorfosi lecitinica).

Miller, 910, mette in dubbio l'esistenza di grasso neutro nelle cellule del corpo luteo gravidico di donna; la comparsa di questa sostanza nel corpo luteo mestruale segnerebbe l'inizio della regressione di questi elementi. Invece le cellule della teca contengono sempre grasso e questo sarebbe un criterio importante per distinguere i due tipi cellulari.

Athias, 911, ha riscontrato con grande frequenza nelle cellule luteiniche delle inclusioni colorabili coll'ematossilina ferrica, in forma di sfere irregolari, oppure di cilindri un po'incurvati, con una zona corticale colorata ed una parte centrale chiara; esse si colorano coll'ematossilina con un'intensità che è in ragione inversa del volume. Talora sono limitate alla periferia della cellula, ma altre volte la riempiono tutta; in quest'ultimo caso confluiscono ed imprimono alla cellula l'aspetto di una massa spugnosa a trabecole colorabili ed a maglie chiare; nell'interno delle maglie si troverebbe la luteina, la quale fu disciolta dai reattivi. Tenendo conto di quest'ultimo fatto, nonchè dell'altra circostanza che nei corpi lutei progrediti i corpi tingibili sono completamente sostituiti da goccie di grasso, l'A. induce che i primi si trasformino nelle seconde.

L'A. vista l'analogia strutturale fra cellula luteinica ed altri elementi a secrezione interna, si associa alle vedute di Born, di Prénant, di Cohn ecc. sulla funzione secretoria del corpo luteo.

In una nota recente Mulon, 912, distingue nei corpi lutei giovani una corona periferica di cellule provenienti dalla teca interna cariche di grosse goccie di grasso birefrangente ed una massa centrale di cellule a goccie fini di grasso ialino provenienti dalla granulosa. In un secondo periodo il grasso scompare dalle cellule, per riapparire più tardi; questa sostanza avrebbe nel corpo luteo il valore di una riserva e non di un prodotto di degenerazione.

Un importante contributo all'ipotesi della funzione secretoria del corpo luteo ci fu recentemente dato da van der Stricht, 912, con un suo studio sul corpo luteo dei Chirotteri, il quale ha il merito di aver analizzato dal punto di vista citologico i più precoci periodi dell'evoluzione della cellula luteinica. Rammento in via incidentale che van der Stricht è partigiano dell'origine mista del corpo luteo; esso si formerebbe

prevalentemente dalle cellule follicolari, ma vi contribuirebbero anche gli elementi ipertrofici della teca interna.

Secondo quest'A. i fenomeni secretori incominciano a manifestarsi negli elementi della granulosa prima ancora della rottura del follicolo; quest'attività si rende palese sotto due aspetti: di secrezione sierosa e di secrezione lipoide. La prima è identica a quella che ha condotto alle formazione del liquor folliculi; dopo la rottura del follicolo e dopo la cicatrizzazione del punto di rottura, un liquido sieroso, chiaro, di natura albuminoidea, che viene elaborato dalle cellule della granulosa s'espande negli spazi intercellulari e nella cavità follicolare, la quale aumenta assai di volume; il liquido così formato comprime le cellule follicolari, il cui citoplasma s'impicciolisce e diviene più denso e più scuro. Ma poichè l'elaborazione sierosa continua, ed inoltre si formano presso il nucleo piccole e numerose granulazioni adipose, la cellula follicolare riacquista, e più tardi supera il volume primitivo. Per la presenza di abbondante contenuto sieroso l'ectoplasma della giovane cellula luteinica ha un aspetto chiaro.

È in rapporto con questo processo secretorio anche lo spostamento delle cellule verso il centro del follicolo, in seguito al quale l'originario epitelio a due strati che rivestiva il follicolo diviene polistratificato, ed anche il cambiamento nella forma delle cellule da rotondeggianti in allungate.

Più tardi quando la cavità cistica scompare, le cellule riversano il loro prodotto sieroso nelle vie linfatiche scavate nel connettivo interstiziale, che rapidamente invade il corpo luteo.

Questo primo periodo, che l'A. definisce come d'istogenesi del corpo luteo, è caratterizzato adunque da un'escrezione sierosa, poichè le piccole granulazioni adipose di cui abbiamo fatto parola più sopra non vengono riversate all'esterno.

Il 2° periodo, il cui inizio coincide colla fissazione della blastociste all'utero, e che dura per quasi tutta la gravidanza, è caratterizzato da una secrezione più abbondante della sostanza lipoide, e quest'è appunto il fattore dell'ipertrofia della cellula luteinica; le trabecole protoplasmatiche le quali delimitano le goccie di grasso sono in continuità colla sfera attrattiva visibile presso il nucleo.

Gli interstizi di varia forma fra le cellule luteiniche sono, secondo l'A., veri lumi ghiandolari, ed in essi si riversa il secreto; ma evidentemente questo nell'abbandonare la cellula modifica la sua composizione chimica, poichè non dà che assai di rado la reazione del grasso; dagli spazi interstiziali il secreto procederebbe nelle fessure linfatiche del corpo luteo ed infine nelle vie linfatiche della sostanza midollare.

Ricorderò ancora brevemente qualche ricerca d'indole chimica sulle sostanze contenute nella cellula luteinica. Wallart ha estratto dal corpo luteo delle granulazioni, le quali tengono in soluzione la luteina e la colesterina.

Chauffard, Guy Laroche e Grigaut, 912, ritengono che nel corpo luteo esistano dei lipoidi fosforati e non fosforati e degli eteri di colesterina mescolati intimamente; in uno stadio iniziale (emorragico) la colesterina è scarsa; invece nel corpo luteo maturo, quando esso assume un colorito roseo, la colesterina è aumentata; infine nella regressione del corpo luteo questa sostanza aumenta ancora. Molti o quasi tutti gli Autori che ho qui citati accettano adunque l'ipotesi sulla natura secretoria della cellula luteinica; fra i pochi che combattono questa veduta va ricordato Paladino, il quale anche recentemente ha affermato che l'evoluzione del corpo luteo sarebbe un classico processo di riparazione e di cicatrizzazione del follicolo.

L'evoluzione della cellula luteinica fu da me studiata prevalentemente su ovaie delle 4 specie di Chirotteri enumerate a pag. 518. Le ovaie furono fissate assieme alla tuba ed all'utero dopo averle liberate accuratamente dal grasso, che in alcune specie è assai abbondante e che ostacola una buona fissazione, e sezionate in serie[1]). I corpi lutei esaminati furono molti, ma io riferirò su quelli che credo più adatti ad illustrare l'evoluzione delle cellule luteiniche.

Qualche osservazione, non però riguardante gli stadi precoci, fu eseguita su ovaie di *Cavia.* Infine per lo studio delle cellule luteiniche viventi in liquidi isotonici mi servii di corpi lutei alquanto progrediti di vacca e di scrofa.

Premetto che, non intendendo di occuparmi dell'istogenesi del corpo luteo, riferirò sull'architettura di questa formazione soltanto quelle notizie che ritengo indispensabili a dare un'idea del grado di sviluppo da esso raggiunto.

1° (fig. 22—25). In un esemplare di *Vespertilio murinus*, nel quale l'uovo allo stadio di due pronuclei si trovava nel terzo esterno dell'ovidutto, il follicolo scoppiato si era digià richiuso.

Il follicolo ha una forma un po' ovale coll'asse maggiore disposto perpendicolarmente alla superficie dell'ovaio; in corrispondenza del polo superiore del follicolo, ove il punto di rottura si è richiuso, la massa delle cellule follicolari è mantenuta discosta dalla teca per mezzo di un coagulo sanguigno; al momento dello scoppio del follicolo è avvenuta adunque, come di solito, una piccola emorragia per rottura dei capillari della teca. Le cellule follicolari sembrano a primo aspetto formare una massa solida, ma in realtà vi è nel mezzo del follicolo una stretta fessura riempita da un coagulo sieroso assai denso contenente molte cellule follicolari; questa fessura, evidentemente corrisponde alla primitiva cavità del follicolo; la sua ampiezza si è enormemente ridotta in seguito alla fuoriescita del liquor folliculi al momento della rottura, ed anche per effetto dello spostamento delle cellule verso il centro del follicolo, che trasforma l'epitelio a due strati del follicolo maturo in un epitelio polistratificato (van der Stricht).

Alla periferia risaltano sulle cellule follicolari, ancora assai piccole, alcuni elementi ipertrofici e ripieni di gocciole di grasso, i quali certamente appartengono alla teca interna (non più di 8—10 per ciascuna sezione). Da qualche punto della teca si dipartono delle fibrille collagene accompagnate da nuclei allungati di connettivo, che s'insinuano fra le cellule

[1]) Questo materiale fu raccolto nei mesi di Marzo ed Aprile 1912 e 1913 nella grotta detta dell'Inferno presso Scala di Giocca (Provincia di Sassari).

follicolari più periferiche; evidentemente noi assistiamo al primissimo inizio della formazione dello stroma[1]).

Le cellule della granulosa sono disposte radialmente dalla periferia del follicolo verso la fessura centrale; le più periferiche sono ovali o piriformi (fig. 22) talora con un peduncolo assai lungo (fig. 23), ma tendono a diventare globose procedendo verso la fessura centrale. Il loro volume è in rapporto diretto al grado di differenziazione raggiunto; le più periferiche, nelle quali incominciano a depositarsi piccole gocciole adipose, misurano sino a $23 \times 8\ \mu$, le più centrali a forma sferica misurano da 8 a 10 μ ed anche meno.

Il loro volume è adunque alquanto aumentato di fronte alle cellule del follicolo maturo, ove le più grandi cellule misurano soltanto $16 \times 7\ \mu$ (almeno nei Chirotteri). Inoltre in quasi tutte le cellule è avvenuta una frammentazione del condrioma; al posto dei lunghi filamenti avvolti in un'intricata matassa che caratterizzano le cellule follicolari, noi troviamo innumerevoli filamenti distinti, brevi, rigidi talora incurvati, ma sempre meno sinuosi, intrecciati in tutti i sensi (fig. 22, 23, 24 e 25), che si spingono spesso sino all'estremità del picciuolo (fig. 23).

Data la compattezza della massa di condrioconti, la loro analisi riesce difficile, se le sezioni non sono sufficientemente sottili; e si può ricevere talora l'impressione che i condrioconti non siano lisci, ma frammentati in granuli; e questo in parte per la sovrapposizione di filamenti situati in vari piani, in parte perchè in ciascuna cellula molti condrioconti sono sezionati trasversalmente ed ad un esame non abbastanza minuzioso possono essere scambiati per granuli.

---

[1]) Dal confronto fra questo stadio ed i successivi sono indotto ad accettare senza riserve la conclusione di Waldeyer, 870, H. Rabl, 898, e van der Stricht, 912, che un certo numero di elementi della teca interna (assai limitato secondo le mie osservazioni) abbia una parte nell'edificazione del corpo luteo, non nel senso ammesso da Sobotta, di dar origine allo stroma, ma che acquistino caratteri identici alle cellule luteiniche provenienti dalla granulosa. Infatti a questo stadio, nel quale la distinzione fra cellule della teca e cellule luteiniche è facilissima, perchè le prime sono più differenziate delle seconde, le cellule tecali furono assimilate all'epitelio follicolare, pur presentando una impronta citologica diversa, ed in molti punti è scomparsa anche la membrana vitrea, che in origine separava la teca dalla granulosa: quà e là qualche cellula tecale s'insinua fra gli elementi follicolari seguendo la via tracciata dalle fibrille connettive che penetrano digià, come sappiamo, nella parte più periferica del follicolo. Soltanto ove lo stroma incomincia ad organizzarsi, i due tipi cellulari sono separati da esili trabecole di connettivo.

Anche più tardi, quando gli elementi della granulosa acquistan l'impronta della cellula luteinica, la distinzione fra queste cellule di origine diversa è possibile e si cancella soltanto in periodi più inoltrati (vedi più oltre).

In realtà i condrioconti sono sempre lisci ed uniformi e mai si trasformano in condriomiti. Mi sembrò quasi sicuramente che il condrioma fosse in ciascuna cellula aumentato di fronte alle cellule follicolari; se la sua quantità complessiva fosse rimasta invariata, per effetto dell'aumento di volume della cellula, i filamenti sarebbero apparsi divaricati, ed invece ho visto che accade precisamente il contrario.

In molte cellule, e specialmente nelle più profonde, i condrioconti si estendono a tutto il citoplasma (fig. 22), ma in molte altre distinguiamo al polo della cellula che è rivolto costantemente verso la parte centrale del follicolo, un alone, talora a forma semilunare, più o meno esteso, del tutto trasparente e privo di condrioconti (fig. 23 e 24); i suoi margini sono formati verso l'interno dal bordo convesso della cellula, verso l'esterno da una linea abbastanza netta, lungo la quale i condrioconti si arrestano; questa zona trasparente talora s'estende lungo una delle faccie laterali della cellula (fig. 24).

Si tratta indubbiamente di quella zona della cellula, che van der Stricht, 912, ritiene sia invasa da un secreto sieroso. Nei miei preparati questa zona andava diventando sempre più tenue verso il bordo libero, ed appariva finamente granulosa soltanto nella sua parte esterna sovrastante immediatamente al nucleo; anzi in qualche punto il citoplasma non raggiunge la membrana cellulare, ma ne rimane un po' discosto ed è ad essa unito da qualche fine trabecola, quasi che fosse avvenuta una retrazione del citoplasma.

Ecco come io interpreterei quest'imagine: in accordo con van der Stricht son convinto che in questo segmento della cellula si formi un secreto albuminoideo in forma di granulazioni trasparenti, che si dissolvono in un liquido assai fluido, e questo si accumula presso il margine superiore della cellula; per effetto dell'azione coagulante dei fissatori la parte più distale della cellula, nella quale esso è contenuto, viene retratta e si discosta alquanto dalla membrana cellulare.

I condrioconti vengono respinti da questo liquido nella direzione della parte basale della cellula, ma si tratta di un fatto puramente meccanico ed io credo che essi restino del tutto estranei al processo secretorio, nel senso che essi non si dissolvono per trasformarsi nel secreto stesso.

Che questo liquido dal margine superiore della cellula passi negli interstizi cellulari come afferma van der Stricht, mi sembra probabile; in qualche punto le cellule sono alquanto divaricate da piccole masse sferiche od allungate, intensamente colorate, che costituiscono evidentemente la sostanza secreta divenuta più densa. Molte fra le cellule più periferiche

di questo corpo luteo contengono delle goccie di grasso[1]); esse sono per lo più localizzate a quello stesso segmento della cellula sovrastante al nucleo, ove abbiamo trovato in altri elementi un secreto sieroso (fig. 22, 23, 24); non di rado le sfere lipoidi appaiono nelle stesse cellule che sono imbevute di liquido sieroso. Sono di solito riunite in un cumulo assai piccolo al polo del nucleo. Le sferule di grasso, salvo qualche rara eccezione, sono piccole (da 0,5 ad 1,5 μ).

Spesso dei condrioconti erano interposti alle goccioline di grasso, ed anche questi erano lisci ed integri, cosicchè niente fa supporre che essi partecipino alla genesi del grasso, almeno dal punto di vista morfologico. —

In questo follicolo adunque oltre alla secrezione sierosa si è iniziata la secrezione lipoide; è estraneo al mio piano di ricerche l'indagare la natura del grasso, se si tratta di grassi neutri o di lipoidi, oppure, come altri Autori hanno affermato, se vi si trovino ambedue queste sostanze.

2° (fig. 26). In un esemplare di *Vespertilio murinus*, nel quale l'uovo era segmentato in due blastomeri e risiedeva circa nel terzo medio della tuba, il corpo luteo ha un forma rotondeggiante e racchiude una cavità assai piccola, che si spinge sin presso il polo superiore del corpo luteo; la cavità contiene un coagulo denso e qualche cellula.

Nella teca interna molte cellule sono ipertrofiche ed alcune infiltrate di grasso; esse sono sempre ben distinte dalle cellule del corpo luteo provenienti dalla granulosa. Lo stroma connettivale del corpo luteo non si è ancora formato; perchè non possiamo considerare come tale qualche rara trabecola che s'insinua fra le cellule dello strato più periferico del corpo luteo.

Si nota la stessa differenza fra la forma delle cellule più superficiali e quella delle più profonde, alla quale abbiamo accennato nello stadio antecedente; molte delle prime sono tuttora piriformi, ma con peduncolo più breve.

La differenza di grandezza delle cellule di fronte allo stadio già descritto è digià notevole: le più allungate misurano $29 \times 12 \mu$ (nucleo $9 \times 6{,}5 \mu$), le piccole 7 μ. Il condrioma (fig. 26) è ben poco modificato; vi è forse la tendenza ad una maggior frammentazione dei condrioconti, ma si tratta di differenze un po' sottili e difficilmente apprezzabili, non essendo le varie

---

[1]) Nei preparati, come appare dalle figure, le goccie più piccole avevano una tinta giallo-bruna, le più grandi giallo-chiara; il colorito nero o bruno scuro del grasso osmizzato era stato così modificato per opera del trattamento delle sezioni col procedimento di Rubaschkin.

cellule egualmente differenziate. Molte cellule contengono quel secreto sieroso di cui fu già fatto cenno.

In altre vediamo qualche goccia di grasso, ma la quantità di questa sostanza non è certo aumentata; l'infiltrazione ha luogo sempre in una zona limitata e neppure il numero delle cellule che sono invase da gocciole adipose mi sembra maggiore.

3° (fig. 27, 28). In un altro esemplare di *Vespertilio murinus*, nel quale l'uovo risiedeva nel segmento medio dell'ovidutto ed era segmentato in 4 blastomeri, il contorno del corpo luteo è assai irregolare per la presenza di 3 grossi stravasi sanguigni evidentemente recentissimi, prodottisi nello spessore della teca; essi introflettono una sottile lamina di quest'ultima verso il corpo luteo. Ed è appunto per la compressione esercitata dal sangue stravasato che la cavità centrale del corpo luteo, la quale si dovrebbe essere formata, riesce a stento apprezzabile.

La teca è sottilissima al polo del corpo luteo che corrisponde alla superficie libera, assai grossa in tutto il rimanente, perchè contiene molte cellule follicolari della teca interna ipertrofiche ed in parte cariche di grasso; la distinzione fra questi elementi e quelli provenienti dalla granulosa è sempre possibile, ma più che per i caratteri citologici, per l'orientazione delle cellule tecali parallela alla superficie del corpo luteo, mentre le cellule luteiniche sono orientate perpendicolarmente alla superficie stessa.

Qualche trabecola di connettivo con nuclei ovali e dei capillari sanguigni (fig. 27) si spingono radialmente dalla teca verso il centro del corpo luteo; le une e gli altri suddividono l'organo in grandi loggie, ciascuna delle quali contiene un nido di grandi cellule luteiniche.

Le cellule hanno quasi tutte assunto una forma meno allungata, anche le più periferiche; il loro volume non è molto aumentato; soltanto le più grandi cellule periferiche misurano $28 \times 14\,\mu$ (nucleo $6.5\,\mu$); in media non superano $15 \times 10\,\mu$ e sono ancora numerose, specialmente nel centro dell' organo, le cellule di $8\,\mu$ di diametro (nucleo $6{,}5\,\mu$). Il rapporto plasmatico-nucleare cresce coll' aumentare di volume della cellula, circostanza già rilevata da Cohn.

La forma del condrioma non è modificata; in tutte le cellule noi troviamo dei condrioconti brevi ed intrecciati fra loro, ma meno compatti, perchè spesso divaricati dalle sferule di grasso (fig. 27); sembra che in seguito all'aumento di volume della cellula i condrioconti diventino più sparsi (fig. 27, 28). Talora ho trovato presso il nucleo una piccola capsula centrale (sfera attrattiva di alcuni Autori), costantemente risparmiata dai condrioconti, ma senza che questi avessero intorno ad essa una disposizione radiale.

Le cellule in secrezione sierosa son rare; aumentata è invece la secrezione lipoide; molte cellule (fig. 27), anche le più piccole ed anche alcune fra quelle in secrezione sierosa, contengono numerose sferule di grasso estese a gran parte del citoplasma, alcune di volume cospicuo (da 1,5 a 3 μ); i granuli piccoli di grasso sono rari. In altre invece (fig. 28) le goccie lipoidi sono scarse ed occupano una zona ristretta.

Rara è la confluenza di varie sferule; ed il grasso ha invaso gran parte del citoplasma appunto per effetto dell'accrescimento delle singole goccie non confluenti. Anche qui fra le goccie di grasso si distinguono i condrioconti.

4°. Un corpo luteo di *Miniopterus* Schreiberi (proveniente da un esemplare nel quale l'ovidutto conteneva un uovo a 4 blastomeri) tanto per il grado di sviluppo dello stroma, che per il volume delle cellule e la quantità di grasso in esse contenuto, poteva ritenersi giunto ad un grado di sviluppo simile a quello ora descritto; e non varrebbe la pena di parlarne, se per opera della fissazione meno perfetta il condrioma non avesse avuto apparenze diverse; la forma delle cellule era ben conservata, ma i condrioconti erano spesso sgretolati in minuti frammenti; si distinguevano bensì dei filamenti, ma questi avevano un contorno poco netto.

Ho voluto ricordare uno fra i tanti reperti, disgraziatamente frequenti, di modificazione artificiale del condrioma per azione del liquido fissatore, per ribadire quanto ho detto sulla grande labilità del condrioma e quanta importanza abbia questa circostanza per i possibili errori d'interpretazione.

5° (fig. 29, 30). In un esemplare di *Rhinolophus euriale*, nel quale l'uovo situato nel terzo interno della tuba era segmentato in 6 blastomeri, il corpo luteo si è ulteriormente sviluppato. Vi è una cavità centrale rotondeggiante, delimitata dal margine libero sporgente delle cellule luteiniche più interne; ed appunto per la convessità del loro margine libero il contorno della cavità appare festonato. Lo stroma connettivo è un po' aumentato; numerose cellule della teca interna ipertrofiche tuttora distinte dalle luteiniche.

Le cellule luteiniche più periferiche misurano sino a $34 \times 22\ \mu$ (nucleo $10\ \mu$), le più piccole $25 \times 22\ \mu$; vi sono però alcune cellule di volume minore; è avvenuto adunque un grande aumento del volume cellulare.

Il citoplasma marginale si è addensato in una listerella refrangente, la quale ha l'aspetto di una vera membrana cellulare (fig. 30). Il nucleo si è spostato verso un polo della cellula (fig. 29, 30); alla periferia si è raccolto il materiale lipoide e nel centro risiede la capsula centrale circondata da una zona di citoplasma, la quale non racchiude sostanze metaplasmatiche (fig. 30); l'estensione di quest'ultima varia assai nelle

singole cellule ed è naturalmente in rapporto inverso alla quantità del materiale lipoide.

In quanto al condrioma, esso è diffuso a tutta la cellula e noi rileviamo subito la circostanza seguente: quanto avevamo soltanto sospettato in una fase antecedente, che per effetto all'aumento del citoplasma i condrioconti trovano maggior spazio disponibile ed appaiono molto meno compatti, vien confermato in modo indiscutibile (fig. 29, 30).

La forma ed anche la lunghezza de singoli filamenti sembra invariata; la loro diffusione è presso a poco eguale nella parte centrale della cellula, ove il grasso manca, ed alla periferia, ove decorrono negli interstizi fra le sfere lipoidi; queste ultime sono un po' ingrandite, di rado confluenti, talora riempono tutta la cellula; ma neppure in tali condizioni il condrioma scompare.

In qualche elemento già in gran parte infiltrato di grasso si svolgeva tuttora ad un polo il processo di secrezione sierosa, ma la zona chiara imbevuta di liquido era assai poco estesa (fig. 30).

Ho trovato in questo corpo luteo qualche rara mitosi (fig. 29) in cellule, che per il loro grande volume ho ragione di ritenere luteiniche; i condrioconti erano conservati, scomparse le sfere lipoidi; non so se questa scomparsa sia da attribuirsi ad una differenziazione avvenuta all'inizio della mitosi, oppure se il processo di divisione abbia interessato cellule non ancora infiltrate di grasso. Ad ogni modo queste mitosi erano troppo rare perchè esse potessero avere importanza per l'accrescimento del corpo luteo; ed io son convinto, in accordo con Sobotta ed altri, che l'ingrandimento di quest'organo, almeno nei primi periodi, avviene esclusivamente per aumento di volume e non di numero delle sue cellule.

Mitosi in cellule luteiniche erano state osservate da Regaud e Dubreuil, 908, ma in corpi lutei di età più inoltrata che nel mio caso.

6°. In un esemplare di *Rhinolophus* nel quale l'uovo era libero nella cavità uterina ed era segmentato in un gran numero di blastomeri, il corpo luteo è un po' più grande, racchiude una cavità cistica centrale, delimitata dal bordo libero delle cellule luteiniche più interne e da qualche cellula connettivale, ma non si è formata una vera membrana connettiva sulla sua superficie interna; la cavità racchiude un coagulo assai tenue. Lo stroma è molto sviluppato. È tuttora visibile una differenza fra le cellule della teca interna e le luteiniche.

Uno sguardo d'insieme al parenchima luteinico ci convince subito che qui, come nei corpi lutei più giovani, le cellule più periferiche son maggiormente progredite delle centrali. Hanno tutte una forma globosa; dalle numerose misurazioni eseguite rilevo che il volume della cellula

non è molto aumentato, per quanto questo stadio sia separato dall'antecedente da un periodo non breve. Cosicchè il maggior volume del corpo luteo dipende probabilmente più che altro dall'aumento dello stroma e dalla maggiore estensione della cavità centrale.

Neppure l'intima struttura della cellula luteinica è molto cambiata; il nucleo è eccentrico, il materiale lipoide di solito limitato alla periferia; i condrioconti si trovano tanto nella parte centrale priva di grasso che negli insterstizi fra le sferule di questa sostanza. In alcune cellule (forse in numero maggiore che nel corpo luteo precedente) tutto il citoplasma è invaso dalle sfere lipoidi; non mancano neppure elementi piccoli i quali non contengono questo materiale.

7°. La differenziazione della cellula luteinica progredisce più rapidamente al momento in cui l'uovo è in procinto di fissarsi alla parete uterina.

In un esemplare di *Vespertilio murinus* nel quale l'utero conteneva una blastociste di 0,40 × 0,28 mm. di diam., con cavità ancora piccola e lecitoforo sporgente nella cavità stessa, il corpo luteo era diventato assai voluminoso; la cavità centrale era scomparsa e la formazione dello stroma molto inoltrata.

Da questo momento, cioè dalla fissazione della blastociste alla parete uterina, incomincia il 2° periodo dello sviluppo del corpo luteo, che van der Stricht, 912, ha definito come periodo di stabilità (période d'état) e che si estenderebbe sino alla fine della gravidanza.

Niskoubina Nadijeida, 909, ha stabilito un'altra divisione; il periodo di stabilità dura da 9 a 10 giorni nella coniglia; verso la metà della gravidanza incomincia la 3ª fase, quella della regressione.

Qualche cellula della teca interna è stata certamente assimilata al corpo luteo ed ormai una distinzione fra i due tipi cellulari fondata su criteri citologici non è più possibile; ma credo di poter attribuire un'origine tecale ad alcune cellule luteiniche periferiche, orientate parallelamente alle fibre collagene della capsula, che avvolge il corpo luteo.

Le più grandi cellule, divenute esse pure schiettamente globose, misurano sino a 30 μ (nucleo 9,5 μ) di diam. Quasi tutte sono letteralmente infarcite di sfere lipoidi, che s'estendono ormai a tutto il citoplasma, non risparmiando che una zona, per lo più piccolissima, in prossimità del nucleo, ove risiede una capsula centrale relativamente grande. Le sfere lipoidi misurano di solito circa 2 μ, ma troviamo talora delle goccie enormi di 4 μ a 6 μ formatesi verisimilmente per confluenza di goccie più piccole.

Le varie sfere talora sono fra loro in rapporto tanto intimo, che neppure nelle più sottili sezioni è visibile il citoplasma interposto; in alcuni punti

gli interstizi fra le goccie sono colorati intensamente dall'ematossilina, un'imagine che io attribuisco all'avere gli interstizi medesimi trattenuto delle particelle di colore. In tali condizioni i condrioconti non si distinguono ed è superfluo che mi diffonda più oltre ad illustrare quali difficoltà si oppongono alla messa in evidenza di queste formazioni.

Del resto nelle cellule in cui le gocciole lipoidi non si sono accumulate in numero tale da ricoprire i condrioconti ostacolandone la visione, questi si distinguono ancora negli interstizi fra le sfere suddette.

In uno altro corpo luteo di *Vespertilio murinus*, da cui fu tolta la fig. 31, ritroviamo imagini analoghe a quelle descritte; la blastociste corrispondente era riescita mal fissata. Circa nel mezzo la cellula (fig. 31) presenta un' incisura, nella quale s'insinua un sottile prolungamento del connettivo interstiziale.

8°. In un esemplare di *Vespertilio murinus*, nel quale la blastociste era assai ingrandita con cavità amnio-coriale già formata, le più grandi cellule luteiniche raggiungono 42×20 μ e quelle di forma sferica 33×32 μ (nucleo 10 μ); quasi tutte le cellule sono molto ingrandite.

L'accumulo di goccie lipoidi è anche maggiore che nel corpo luteo antecedente; son ben scarsi gli elementi nei quali la metamorfosi adiposa ha risparmiato la zona centrale della cellula, ove risiede la capsula centrale ed ove troviamo raccolti in un gruppetto dei condrioconti. In quanto al condrioma nelle cellule in metamorfosi avanzata, non potrei che ripetere quanto ho detto a proposito del corpo luteo precedente.

Un confronto fra i miei risultati e quelli di altri Autori, specialmente nel riguardo della differenziazione del materiale lipoide, ci riesce ben arduo, per il fatto che quasi tutti coloro i quali si occuparono un po' diffusamente della citologia della cellula luteinica, se si eccettua il van der Stricht, hanno trascurato di stabilire l'età del corpo luteo. Cesa Bianchi, Ciaccio ed altri affermano che in un primo periodo la cellula non contiene granulazioni lipoidi o ne contiene pochissime, e che queste incominciano ad apparire più tardi; se colla designazione di »primo periodo« questi Autori alludono a quella fase brevissima (dalla formazione del 2° globulo polare alla prima segmentazione dell'uovo), durante la quale la cellula follicolare conserva almeno in parte la sua impronta originaria (corpo luteo 1), l'affermazione di quegli Autori può essere accettata; ma questa supposizione cade di fronte al fatto che dalle figure di quegli Autori (Cesa Bianchi ad esempio) appare che le cellule luteiniche del periodo definito come preparatorio erano assai inoltrate nello sviluppo.

Non si può dubitare adunque, che, come già Cohn e van der Stricht avevano affermato, la secrezione lipoide della cellula luteinica raggiunga

prestissimo il suo grado massimo, contemporaneamente alla fissazione della blastociste.

I condrioconti da me visti in questo periodo dell' evoluzione della cellula luteinica corrispondono certamente ai filamenti ergastoplasmatici descritti da Regaud e Policard, 906, in un corpo luteo di riccio di 10—12 giorni, come pure a quelli ricordati da Ciaccio, 910; e forse anche le imagini definite da Riquier, 910, come apparecchio reticolare interno, protrebbero essere interpretate come il risultato di una parziale impregnazione del condrioma.

9°. In corpi lutei di periodi un po' più inoltrati della gravidanza la costituzione della cellula luteinica rimane invariata per qualche tempo (période d'état di van der Stricht) e perciò è superflua qualsiasi descrizione.

Voglio invece riferire sovra un corpo luteo di *Cavia* (fig. 32, 33) a gravidanza inoltrata (l'utero conteneva un feto di 15 mm. di lunghezza). Dai caratteri delle cellule rileviamo subito che l'organo si trova in regressione.

Lo stroma connettivo ed i capillari sono abbondanti; nel centro dell'organo si trova un nucleo di connettivo denso fibroso.

La regressione del corpo luteo è indicata da un forte impicciolimento delle cellule e da una spiccatissima diminuzione del materiale lipoide; questi due fenomeni si fanno sempre più pronunziati dalla periferia al centro dell'organo.

Le cellule in regressione meno avanzata conservano talora la forma globosa od ovale originaria, ma a volte il loro contorno è divenuto irregolare (fig. 32, 33); le sfere colorite dal tetrossido di osmio sono meno numerose e meno fitte, tanto che nel citoplasma fra di esse interposto si distinguono con facilità i condrioconti.

Inoltre deve essere avvenuta una metamorfosi nella costituzione chimica di queste sfere lipoidi, perchè molte di esse, per quanto osmizzate, (la fissazione era identica a quella degli altri corpi lutei) sono state disciolte dal benzolo e dallo xylolo adoperati per l'inclusione e per la diafanizzazione ed appaiono come vacuoli (fig. 32).

Modificazioni anche più profonde debbono essere intervenute nelle cellule luteiniche più centrali; le sferule lipoidi sono parzialmente o totalmente scomparse dai preparati (fig. 33); nè regge la supposizione che esse siano state disciolte dai solventi, perchè in molte fra di esse non troviamo vacuoli, ma tutto il citoplasma ha una costituzione uniforme. Talora sono state sostituite da granuli piccoli colorati dall'ematossilina (fig. 33) e che verisimilmente sono di natura proteica. Anche in queste cellule persistono i condrioconti coi consueti caratteri; nella cellula riprodotta a fig. 33, che ha ancora un discreto volume, i condrioconti son piuttosto sparsi, ma in altre rimpicciolite maggiormente, essi son più raccolti, sì

da rammentare alquanto il tipo delle cellule follicolari, dalle quali le cellule luteiniche trassero origine.

Sovente ho veduto nella consueta sede la capsula centrale (fig. 32) contenente due centrioli. Anche in questo corpo luteo ho notato qualche mitosi di cellule luteiniche.

Lo studio della regressione delle cellule luteiniche sarebbe riescito più esauriente se fosse stato corredato da una ricerca microchimica sulle trasformazioni dei lipoidi, ma io non disponevo di materiale fissato in modo adeguato a tale scopo; come risulta dai cenni bibliografici riferiti. l'argomento è insufficientemente studiato e sarebbe desiderabile che esso fosse meglio chiarito.

Le indagini da me eseguite su corpi lutei appartenenti od al periodo di stabilità od a quello di regressione non sottoposti all'azione dei fissatori, dissociati in liquidi isotonici, sebbene frammentarie, hanno servito a darmi affidamento dell'attendibilità dei risultati ottenuti dallo studio dei preparati fissati e coloriti.

In cellule voluminose (di circa 30 μ di diam.), ma nelle quali le sfere lipoidi erano piccole e scarse, assai refrangenti ed incolore, si distinguevano, quando si metteva a fuoco la superficie della cellula, dei filamenti lievemente incurvati; quando il campo era fortemente illuminato con luce artificiale essi apparivano come fortemente risplendenti (fig. 34), se invece si abbassava il condensatore, spiccavano per la loro refrangenza.

Nelle cellule luteiniche ricche di grosse sfere lipoidi di colorito giallo questi filamenti, che credo di poter definire come condrioconti, non erano più visibili.

Riassunto.

La cellula luteinica offre durante la sua differenziazione e la sua regressione le seguenti caratteristiche:

a) I condrioconti lunghissimi e sinuosi della cellula follicolare subito dopo la deiscenza del follicolo si frammentano in molti segmenti e prestissimo crescono di numero: non saprei definire con quale processo avvenga la moltiplicazione del condrioma; mi sembra ad ogni modo inverosimile che questa possa prodursi, come afferma Dubreuil, 912, per altri elementi. per moltiplicazione di mitocondri granulari, perchè nelle cellule luteiniche questa varietà del condrioma non esiste assolutamente.

La supposizione più probabile per spiegare la loro moltiplicazione è, che subito dopo la frammentazione dei lunghi filamenti delle cellule follicolari la quale, come sappiamo, avviene subito dopo la deiscenza del follicolo, i singoli segmenti crescano rapidamente in lunghezza e si suddividano di nuovo per divisione trasversale.

Poco dopo la deiscenza del follicolo si stabiliscono nelle cellule dei processi di secrezione sierosa e lipoide. Sull'inizio prevale di gran lunga la prima, ma presto (durante la segmentazione dell'uovo) essa è sostituita dalla seconda. All'una ed all'altra i condrioconti restano estranei, almeno dal punto di vista morfologico, cioè non si nota una continuità materiale fra i condrioconti ed i prodotti di secreto sieroso o lipoide.

Non ho notato nelle cellule luteiniche durante questi due primi periodi (di secrezione sierosa e lipoide) la presenza di granuli di secreto di natura proteica, di cui alcuni Autori parlano, ed è possibile che queste granulazioni non fossero che condrioconti alterati da una fissazione inadeguata.

b) La secrezione lipoide e l'aumento di volume della cellula, che ne è la diretta conseguenza, raggiunge il suo massimo al momento della fissazione dell'uovo alla parete uterina[1]). Anche in questa fase i condrioconti persistono e la loro apparente diminuzione è dovuta al fatto che essi vengono divaricati dalle goccie di grasso, le quali crescono di numero e di volume. Un fenomeno analogo fu da me, 912, osservato nelle cellule epatiche di Anfibi durante la loro differenziazione.

c) Durante la formazione dei foglietti embrionari e l'ulteriore evoluzione dell'area embrionaria si osserva dapprima un periodo di stabilità nella cellula luteinica, durante il quale la quantità di materiale lipoide resta invariata; nella seconda metà della gravidanza succede il periodo di regressione della cellula stessa; in questo secondo periodo la cellula rimpicciolisce, le sue sfere lipoidi finiscono collo scomparire, i condrioconti diventano più facilmente visibili; vi si notano infine delle granulazioni probabilmente proteiche.

IV. Cellule della »teca interna« e cellule interstiziali dell'ovaio.

Io son convinto che le cellule interstiziali o midollari dell'ovaio di Mammiferi derivino da elementi della teca interna di follicoli atresici divenuti ipertrofici ed in parte anche da cellule fisse dello stroma ovarico.

Questa mia convinzione è fondata sulla conoscenza della letteratura, ed anche su osservazioni personali. Ed è per questo che mi son creduto autorizzato a riunire questi due tipi cellulari geneticamente collegati, ma morfologicamente tanto diversi, in un unico capitolo.

Non è mio proposito di illustrare la genesi delle cellule interstiziali e tralascio parimenti la vasta letteratura, dalla quale risulta dimostrato

---

[1]) Questa coincidenza, già affermata da altri Autori (Cohn ecc.) mi sembra un buon argomento in favore dell'ipotesi che i due fenomeni, secrezione del corpo luteo e fissazione dell'uovo all'utero, siano in rapporto causale; ipotesi alla quale le belle esperienze di Ancel e Bouin hanno portato un notevole contributo.

ampiamente, nonostante qualche veduta discordante espressa anche recentemente, l'origine tecale di una parte prevalente delle cellule interstiziali. Io mi propongo di studiare esclusivamente le modificazioni citologiche che caratterizzano la loro evoluzione e che finiscono coll'imprimere a queste cellule la loro impronta specifica.

Tale evoluzione incomincia, almeno nei Roditori, qualche giorno dopo la nascita, e continua anche nell'adulto, nel quale, a quanto sembra, avverrebbe un continuo rinnovamento di elementi interstiziali. Del tessuto interstiziale che fu descritto nell'ovaio fetale di Solipedi, ove raggiunge una grande estensione, per poi regredire più tardi, non intendo di occuparmi, visto che non è ancora dimostrato che i suoi elementi abbiano origine comune alle cellule interstiziali dell'adulto. Da ricerche recenti risulterebbe che anche nei Carnivori (Popoff, Sainmont) e nella *Talpa* esisterebbe una ghiandola interstiziale fetale.

È noto che le cellule interstiziali furono scoperte quasi contemporaneamente da Schrön, 863, e da Pflüger, 863; quest'ultimo Autore dimostrò nel loro citoplasma la presenza del grasso; e questa sostanza sarebbe, secondo Paladino, indice della loro regressione.

Dalle indagini comparative di van Beneden, Born, Paladino, Limon, Fränkel, Aimé, Ganfini, Popoff ecc. si rileva che l'estensione del tessuto interstiziale varia assai nelle diverse specie e che in alcune (quale l'ovaia di donna) esso manca del tutto. Sulla citologia di questi elementi non troviamo dati molto esaurienti; gli Autori ne ricordano la forma poliedrica, il grande volume e la presenza di numerosissime sfere lipoidi che, se disciolte dai solventi dei grassi, conferiscono loro un aspetto alveolare. Mac Leod, 880, rileva la scarsa colorabilità di queste cellule, cosicchè il loro citoplasma si tinge solo coi coloranti assai energici (picrocarminio).

Regaud e Policard, 901, hanno notato in questi elementi delle goccioline colorabili col metodo Weigert per la mielina, identiche a quelle dagli stessi Autori descritte nelle cellule follicolari (vedi p. 517) e ne inducono che le cellule di cui ci occupiamo siano dotate di un'attiva funzione secretoria.

Montuoro, 903, ha notato in molte cellule midollari non contenenti grasso dei granuli colorabili colla fucsina; altre cellule non racchiuderebbere materiali metaplasmatici.

Limon, 903, manifesta il convincimento che questi elementi siano di natura ghiandolare ed anzi introduce senz'altro il concetto di ghiandola interstiziale. In quanto alla loro struttura, le goccie adipose sono piccole e di volume uniforme e le trabecole protoplasmatiche che le separano finamente granulose.

Le cellule della teca interna si trasformano a poco a poco in midollari acquistando i seguenti caratteri; da allungate diventano globose, il loro citoplasma perde l'affinità per i colori acidi; anche quando l'atresia follicolare è assai inoltrata e questi elementi da sè soli costituiscono il cosidetto «corpo luteo falso», essi restano per lungo tempo piccoli e contengono soltanto poche goccie di grasso; soltanto all'epoca della pubertà le cellule del «corpo luteo falso» aumentano di volume, e si caricano di una grande quantità di grasso, acquistando così i caratteri delle cellule interstiziali a completo sviluppo.

Ancel e Bouin, 905, suppongono che le cellule interstiziali secernano una sostanza destinata alla conservazione dei caratteri sessuali secondari.

Sainmont, 906, invece ritiene dubbia la loro natura secretoria.

Quest'A. distingue, fondandosi prevalentemente sulla quantità di grasso contenuta nel citoplasma, cinque tappe nell'evoluzione delle cellule midollari: cellula giovane, di transizione, adulta, degenerata ed ipertrofica.

Secondo Regaud e Dubreuil, 906, le cellule interstiziali produrrebbero una sostanza complessa lipoide, la quale, nel venire emessa dalla cellula, modifica la sua costituzione; essi hanno notato in tutte le cellule, tanto nelle più giovani che nelle più progredite, presso al nucleo dei granuli (diplosomi).

Cesa-Bianchi, 907, descrisse delle differenze fra le cellule interstiziali di Chirotteri in riposo e quelle in attività secretoria; nelle prime il citoplasma è omogeneo, nelle seconde grossolanamente granulare con vacuoli. Il grasso è abbondantissimo all'epoca del risveglio invernale, più scarso nell'estate; per alcuni caratteri microchimici questa sostanza si avvicina al grasso della cellula luteinica.

Nella memoria di Zalla, 907, la quale è sfuggita a quasi tutti gli Autori recenti, sebbene contenga alcuni dati pregevoli, è ricordata la grande solubilità delle goccie adipose contenute in queste cellule, anche se osmizzate; nelle cellule più differenziate una piccola zona di citoplasma presso il nucleo è risparmiata dall'infiltrazione lipoide ed ha una struttura granulosa. Per quel che riguarda la loro evoluzione, le cellule della «teca interna» dei follicoli, non contengono grasso; piccoli granuli lipoidi vi appaiono soltanto quando nel follicolo s'inizia il processo d'atresia; e contemporaneamente le cellule tecali divengono granulose e fortemente colorabili. — Col divenire il materiale metaplasmatico sempre più abbondante, la cellula aumenta di volume ed il citoplasma diviene in gran parte alveolare.

Ciulla, 909, distingue nelle cellule interstiziali due specie di grasso; l'una assai scarsa si colora in nero col tetrossido di osmio e dopo tale trattamento resta insolubile in xylolo, l'altra abbondante si colora in bruno se osmizzata e si scioglie in xylolo; molti granuli si colorano col metodo Ciaccio e l'A. ne induce la natura lecitinica di questi. Esistono infine granuli di aspetto mitocondriale. Durante la gravidanza i lipoidi della cellula interstiziale aumentano.

Ciaccio, 910, dimostrò, per mezzo dei suoi metodi, delle gocciole grassose e lipoidi tanto nelle cellule interstiziali che in quelle della teca, ma in queste ultime i lipoidi prevalgono.

Nella gravidanza, nelle infezioni e nelle intossicazioni queste cellule aumentano di numero, forse per trasformazione di comuni cellule connettivali in interstiziali; il loro volume aumenta in seguito ad accumulo di lipoidi.

Benthin, 911, ha constatata la presenza di goccie di grasso nelle cellule della «teca interna» di tutti i grossi follicoli di ovaie di *Cavia;* l'aumento della quantità di grasso è l'indice dell'inizio del processo di atresia.

Mulon, 911, riscontrò in cellule interstiziali dei mitocondri sferulari, in altre dei piccoli corpi che definisce come siderofili, in altre infine una sostanza siderofila diffusa: vista la somiglianza fra questa sostanza e quella dell'interrenale, A. ne induce un'identità funzionale fra i due tipi cellulari.

Athias, 912, confermò la presenza di mitocondri in questi elementi, in forma di granulazioni sferiche, di dimensioni ineguali, sempre assai piccoli e talora di condrioconti. Presso il nucleo son più densi, talvolta sono allineati nella direzione dell'asse

maggiore della cellula. Quando il grasso si fa abbondante diminuisce il numero delle formazioni mitocondriali.

La cosidetta siderofilia di queste cellule, che è dal Mulon attribuita ad una coalescenza di mitocondri, dipende, secondo Athias, da una dissoluzione di questi ultimi.

In cellule interstiziali di *V. murinus*, 912, il condrioma è costituito da bastoncini rettilinei od incurvati e di granulazioni provenienti dalla segmentazione di questi e di vescicole; i bastoncini diminuiscono contemporaneamente alla comparsa del grasso; anche nelle cellule contenenti una piccola quantità di questa sostanza si trovano soltanto pochi e piccoli mitocondri presso il nucleo. La sostanza lipoide si formerebbe nell'interno di ciascun mitocondrio; per un certo periodo rimane intorno alla sfera di grasso una corteccia colorabile coll'ematossilina, costituita dalla sostanza del mitocondrio. Ma nelle cellule molto cariche di grasso qualsiasi contenuto mitocondriale scompare.

Van der Stricht, 912[1]), si occupa dei fenomeni secretori che si svolgono nelle cellule interstiziali; gli elementi più giovani di piccolo volume avrebbero l'identica costituzione di quelli più sviluppati; soltanto questi ultimi conterrebbero delle goccie di grasso più cospicue.

Prima di essere eliminate, queste goccie subiscono una modificazione chimica, in seguito alla quale perdono la proprietà di colorirsi col tetrossido di osmio; allora esse appaiono come sfere vacuolari con contorno colorato e contenuto incolore, od anche del tutto scolorate. Al momento dell'eliminazione del secreto, questo s'accumula alla periferia della cellula ed il contorno di quest'ultima diviene indistinto, appunto per il passaggio di una parte del secreto, divenuto liquido, dalla cellula agli spazi intercellulari.

L'A. è convinto che anche nel tessuto interstiziale, come nel luteinico, si formino delle vescicole negli spazi intercellulari, in seno alle quali si accumula il prodotto lipoide. In seguito a quest'ultimo fatto si avrebbe un aumento della pressione intraovarica, che esercita un'influenza notevole sulla rottura del follicolo; ed infatti l'accumulo del secreto è sopratutto notevole poco prima della rottura dei follicoli.

Come nel parenchima luteinico, anche in quello interstiziale, il prodotto lipoide vien trasportato in circolo dalle vie linfatiche.

Ho studiato l'evoluzione delle cellule interstiziali a preferenza nelle ovaie di *Cavia* e di Coniglia; qualche dato, riguardante specialmente le cellule della »teca interna« del corpo luteo vero fu rilevato in ovaie di Chirotteri.

1°. La teca interna già nei piccoli follicoli non atresici di 0,2—,025 mm di diam., nei quali s'incomincia a formare una cavità[2]) è cospicua e, per

---

[1]) Van der Stricht ha osservato, che almeno nei Chirotteri, le prime cellule interstiziali si sviluppano a spese delle cellule fisse dello stroma; più tardi le cellule della teca dei follicoli atresici, numerosissime, contribuiscono al grande aumento di quest'organo.

[2]) Nelle ovaie di *Cavia* e di Coniglia, specialmente se si tratta di individui giovani, nei quali l'atresia follicolare è estesissima, non è agevole di stabilire una distinzione fra i follicoli normali, destinati ad un'evoluzione ulteriore e quelli in cui incomincia una lieve ipertrofia della «teca interna» che condurrà all'atresia; all'inizio di questo processo non è visibile la più lieve alterazione nè della granulosa nè dell'ovocita e la dola differenza apprezzabile è un lieve aumento nel numero e nel volume delle cellule sella teca, un criterio, come ognuno comprende, incerto e subbiettivo.

la sua costituzione quasi esclusivamente cellulare, nettamente distinta dalla »teca esterna«: Le cellule son quasi tutte più voluminose e con citoplasma più abbondante delle comuni cellule connettive; sono per lo più allungate, con estremità arrotondate od affusate dirette parallelamente alla teca esterna: in quanto ai loro rapporti reciproci, esse sono assai ravvicinate e ben di rado si vedono negli interstizi delle fibrille connettive.

Il condrioma di queste cellule è costituito da filamenti più brevi che nelle cellule follicolari, compatti, lievemente incurvati; nelle cellule più piccole a citoplasma scarso, i condrioconti sono addensati ai poli del nucleo in due ammassi quasi irrisolvibili otticamente, analogamente a quanto abbiamo veduto nelle cellule follicolari appiattite.

Nei follicoli vescicolosi la teca è più grossa per aumento di numero delle sue cellule, ma la loro costituzione non si è modificata; il tipo più comune è quello riprodotto a fig. 35: forma allungata, condrioconti brevi, con tendenza ad orientarsi lungo l'asse. — Negli elementi un po' più grandi (15×11 μ di diam.) il nucleo è eccentrico e nel mezzo del citoplasma vi è una zona chiara libera da condrioconti; io attribuisco questa disposizione del condrioma alla presenza della capsula centrale, ma questa formazione non era chiaramente riconoscibile in cellule così piccole. —

Sintetizzando i dati riguardanti il condrioma delle cellule tecali dei follicoli normali, questo risulta di filamenti più brevi che nelle cellule follicolari ed anche più compatti, dimodochè le prime si distinguono agevolmente, anche ad un medio ingrandimento, dalle seconde, per la colorazione più intensa, la quale dipende dalla maggior compattezza del condrioma. —

van der Stricht, 912, afferma che nei follicoli normali di *Vespertilio murinus* la teca è una membrana sottilissima (vedi la sua fig. 54) la quale può esser circondata da cellule voluminose a disposizione concentrica, ma queste non costituiscono un vero involucro separato dal connettivo circostante.

L'esame dei miei preparati di ovaie di Chirotteri mi permette di confermare senza riserve questo dato rilevato da van der Stricht: in *Vespertilio murinus* l'involucro connettivo dei follicoli non è ben delimitato come nella *Cavia* e nella Coniglia, ma esso si confonde collo stroma vicino; anche i piccoli follicoli non atresici sono circondati da cellule interstiziali voluminose, ripiene di grasso, quali nei Roditori si trovano soltanto dopo la fine del processo di atresia follicolare; non è verosimile che queste cellule si siano sviluppate in seguito all'atresia follicolare,

ma come afferma van der Stricht, esse traggono certamente origine da cellule fisse dello stroma. —

L'apparente discordanza fra i risultati di Limon e quelli di van der Stricht è dovuta adunque alla circostanza, che nei Roditori l'involucro dei follicoli normali ha una costituzione del tutto diversa da quella dei Chirotteri.

2°. Il primo segno di atresia si palesa nei follicoli ovarici di *Cavia* e di Coniglia con un aumento di numero e di volume delle cellule della »teca interna«; molte di esse divengono globose. — I condrioconti si mantengono brevi, incurvati o lievemente sinuosi, e molto compatti (fig. 36, 37. 38), il che indica che sono aumentati di numero; perchè se ciò non fosse avvenuto, in conseguenza dell'accrescimento del citoplasma, i condrioconti sarebbero apparsi più lassi. — Il fatto è soprattutto appariscente nell'ovaio di Coniglia (fig. 39) ed in questa specie i condrioconti son forse più tozzi e più corti che nella *Cavia*.

Queste cellule si riproducono attivamente per mitosi (fig. 36); ed il comportamento dei condrioconti è, durante tutte le fasi di questo processo, identico a quello descritto nelle cellule follicolari (fig. 12 e 17).

In follicoli in cui l'atresia è più inoltrata ed incominciano a manifestarsi fatti degenerativi nella granulosa, la »teca interna«, s'ispessisce ulteriormente, raggiungendo sino a 0.06 mm. di diam. nei grossi follicoli, per moltiplicazione delle sue cellule, ed anche perchè l'ipertrofia interessa un numero molto maggiore di elementi.

3°. Le modalità del processo di atresia follicolare variano assai anche fra specie zoologiche affini, ed anche in uno stesso ovaio; talora (come nella Coniglia) sembra che l'ispessimento della membrana vitrea protegga le cellule follicolari e l'ovocita, mentre nell'ovaio di *Cavia*, nel quale l'ispessimento della membrana vitrea è meno frequente, le cellule follicolari e l'ovocita vengono rapidamente distrutti. Ma ben più delle modalità dell'atresia a noi interessa il risultato finale; ed anche in questo ho trovato differenze grandissime.

Nella *Cavia* il residuo del follicolo atresico era spesso costituito esclusivamente da cellule voluminose, prevenienti dalla »teca interna« (fig. 40); ed in alcuni casi l'ipertrofia delle cellule tecali può essere enorme: si confrontino la fig. 35 (la quale riproduce cellule tecali di un follicolo normale) colla fig. 41, tenendo presente che ambedue le figure furono eseguite all'identico ingrandimento.

Il rapporto plasmatico-nucleare si mantiene in queste cellule ipertrofiche invariato, a differenza che negli elementi luteinici e nei midollari,

nei quali l'ipertrofia cellulare dipende dall'accumulo di sostanze metaplasmatiche.

Il condrioma si presenta in queste cellule in forma di lunghi filamenti, sinuosi e radi (fig. 40, 41); evidentemente i condrioconti non sono aumentati di numero paralellamente all'aumento del corpo cellulare, come nelle cellule tecali più giovani, bensì son cresciuti in lunghezza.

Quale sorte sia riserbata a queste cellule ipertrofiche, non infiltrate di grasso, è dubbio; io suppongo che l'infiltrazione lipoide avvenga più tardi e che esse si trasformino in comuni cellule midollari, ma non potrei affermarlo con certezza.

In altri follicoli atresici (e quest'è il caso più frequente, almeno nell'ovaio di coniglia) le cellule tecali prima di raggiungere un grado così elevato d'ipertrofia, si caricano a poco a poco di goccie di grasso; ed allora noi ci troviamo di fronte a quello progressiva trasformazione di cellule tecali in midollari che fu descritta da Limon e da altri.

Per effetto della grande solubilità delle goccie lipoidi, anche se osmizzate, le cellule tecali hanno quasi sempre una costituzione vacuolare e fra i vacuoli serpeggiano i condrioconti.

La colorazione dei condrioconti incontra in questi elementi maggiori difficoltà che nelle cellule luteiniche; ciononostante, coll'esame di un gran numero di preparati, io ho potuto persuadermi della persistenza di questi organuli, anche quando l'infiltrazione lipoide è assai inoltrata, come nella cellula riprodotta a fig. 42.

Consideriamo più davvicino questi elementi, che hanno raggiunto il grado massimo di differenziazione, e che costituiscono la cosidetta ghiandola interstiziale nella Coniglia e nella *Cavia*. — Il loro volume è in queste speciè presso a poco eguale a quello delle cellule luteiniche (nei Chirotteri è alquanto inferiore) e come in quegli elementi il nucleo non è cresciuto in misura eguale del corpo cellulare.

Lungo il contorno della cellula è apparsa una membranella sottile, refrangente, d'aspetto cuticolare; le goccie lipoidi hanno presso a poco tutte la stessa grandezza, sono estese uniformemente a quasi tutto il citoplasma, risparmiandone soltanto una zona limitata, che circonda una metà del nucleo; in quest'ultima vediamo un'area ovale, chiara, nettamente delimitata, nella quale sono contenuti due centrioli (fig. 42); si tratta certamente della capsula centrale.

I condrioconti sono in queste cellule brevi, sottili, lievemente ondulati e si addensano soltanto nella zona di citoplasma vicina al nucleo, che non è invasa dai lipoidi; risparmiano invece, come di solito, la capsula

centrale. In tutto il rimanente del corpo cellulare i condrioconti sono radi e decorrono nei sottili interstizi fra le goccie lipoidi.

4°. Le cellule della »teca interna« del corpo luteo vero dei Chirotteri s'infiltrano, come quelle dei follicoli atresici, di materiale lipoide; soltanto, a differenza che in questi ultimi, l'infiltrazione avviene precocissimamente, molto prima che le cellule tecali entrino a far parte del parenchima luteinico; è appunto tale carattere che permette di distinguerle durante un certo periodo dalle cellule della granulosa, nelle quali l'infiltrazione lipoide avviene più tardi (vedi pag. 530) ed è, almeno durante i primi periodi, cioè finche l'uovo non arriva nella cavità uterina, meno pronunziata.

In alcune cellule tecali il grasso appariva nei preparati in forma di goccie brune, in altre era stato disciolto dai solventi, e le goccie erano sostituite da piccoli vacuoli sferici (fig. 43, 44). — Negli interstizi fra questi si distinguono numerosi condrioconti, di varia lunghezza, un po' incurvati, e sovente orientati paralellamente all'asse maggiore della cellula (fig. 43, 44).

Le cellule della »teca interna« del corpo luteo vero differiscono adunque, nelle più precoci fasi della loro differenziazione, dalle cellule luteiniche provenienti dalla granulosa, soprattutto per la maggior solubilità delle goccie lipoidi (confronta le fig. 43 e 44 colle fig. 23, 24, 26, 28, 30).

Più tardi quando le cellule tecali aumentano ulteriormente di volume, per effetto di una maggiore infiltrazione lipoide, tali differenze di fronte alle cellule luteiniche tendono a cancellarsi e le prime si riconoscono soltanto per la diversa orientazione (pag. 534), finchè dopo la fissazione dell'uovo alla parete uterina una distinzione fra le une e le altre diviene impossibile.

Riassunto.

a) Il condrioma delle cellule della »teca interna« dei follicoli ovarici si compone di filamenti più corti e più compatti di quelli delle cellule della granulosa.

b) Quando le cellule tecali s'ipertrofizzano, all'inizio dell'atresia follicolare, i condrioconti divengono dapprima più numerosi, ma quando l'ipertrofia raggiunge un grado elevato, l'aumento dei condrioconti s'arresta, e questi divengono più lassi.

c) Durante la mitosi i condrioconti delle cellule tecali si comportano tatticamente, come quelli delle cellule follicolari.

d) L'infiltrazione lipoide incomincia in queste cellule tardissimo, cioè dopo la completa distruzione del follicolo atresico. I condrioconti persistono durante la trasformazione della cellula tecale in interstiziale, ed anche quando l'infiltrazione lipoide ha raggiunto un grado estremo, i condrioconti vengono divaricati dalle gocciole lipoidi che si vanno depositando, fuorchè in una zona limitata in prossimità del nucleo (contenente la capsula centrale), la quale vien risparmiata dall'infiltrazione lipoide.

e) Nelle cellule della »teca interna« del corpo luteo vero, le quali sono destinate a venire assimilate dal parenchima luteinico, la metamorfosi lipoide avviene più presto che in quelle dei follicoli atresici non solo, ma anche più precocemente che nelle cellule luteiniche provenienti dalla granulosa; ed esse assumono un'impronta diversa dalle cellule che formano la ghiandola interstiziale dell'ovaio.

Raffronti.

Fra le cellule luteiniche e le interstiziali sussistono, nonostante l'origine tanto diversa, analogie di vario ordine:

Analogia funzionale, anzi tutto, che fu messa in rilievo negli ultimi anni da numerosi ricercatori, poichè ambedue i tipi cellulari costituiscono vere ghiandole a secrezione interna, che riversano il loro secreto, di natura prevalentemente lipoidica, nella corrente linfatica e sanguigna.

La seconda analogia riguarda il meccanismo della differenziazione di queste cellule; ed è a ciò che le mie ricerche hanno portato un contributo. — Io considero l'evoluzione tanto delle cellule luteiniche che di quelle interstiziali, come un tipico processo di differenziazione, paragonabile a quello che durante lo sviluppo ontogenetico conduce alla trasformazione delle cellule indifferenziate degli abbozzi delle ghiandole, in cellule secernenti.

E cellule tecali e follicolari hanno infatti a comune colle cellule embrionarie, la grande capacità riproduttiva, la particolare disposizione dei condrioconti, ed il comportamento tattico di questi ultimi durante la cinesi.

L'impronta di cellule indifferenziate si va a poco a poco cancellando tanto dalle une che dalle altre, quando incominciano ad acquistare la costituzione di elementi secernenti, per l'aumento del loro volume e per l'accumulo di materiale lipoide: si estingue allora in esse la proprietà di riprodursi attivamente; i condrioconti si frammentano, vengono divaricati dalle goccie lipoidi che si vanno formando, e rimangono sparpagliati negli interstizi fra queste ultime.

Una modificazione analoga, ed anche in quel caso strettamente passiva, del condrioma fu da me, 912, notata nella differenziazione della cellula epatica degli Anfibi.

Dubreuil, 911, ha cercato di dimostrare, che durante la metamorfosi delle cellule fisse del connettivo in adipose, i condrioconti dapprima si frammentano in mitocondri e questi alla lor volta si trasformano direttamente in sfere lipoidi. — Niente di tutto ciò s'osserva nelle cellule luteiniche ed interstiziali, nelle quali il condrioma è sempre in forma di filamenti e mai di granuli; ed io dubito che le imagini, viste da Mulon e da Athias nelle cellule luteiniche ed interstiziali, di trasformazione di mitocondri in goccie di grasso, dipendano da imperfezioni tecniche.

Queste nuove ricerche hanno adunque riaffermata in me la convinzione che i condrioconti costituiscano degli organuli permanenti del citoplasma e che, nè durante la differenziazione, nè durante l'attività secretoria della cellula avvenga una trasformazione materiale dei condrioconti in sostanze metaplasmatiche. Non intendo con ciò di affermare che essi restino estranei al metabolismo nella cellula, ma, come io ho altrove, 912, supposto, i condrioconti cedono forse delle particelle non accessibili ai nostri mezzi d'indagine; queste potrebbero costituire dei centri d'attrazione per i lipoidi adsorbiti dalla cellula (almeno nel caso degli elementi di cui ci occupiamo) — gli elettosomi di Regaud, e soltanto quando i lipoidi si fossero raccolti in goccioline intorno a quelle particelle, essi diventerebbero apprezzabili al microscopio.

Degne di attenzione mi sembrano infine le variazioni nel rapporto plasmatico-nucleare durante la differenziazione delle cellule luteiniche ed interstiziali: finchè aumenta il citoplasma senza accumulo di lipoidi, cresce proporzionalmente anche il nucleo — cioè il rapporto plasmatico nucleare si mantiene costante. Ma l'aumento del nucleo s'arresta quando l'accrescimento della cellula dipende da accumulo di materiale metaplasmatico.

Indicazioni bibliografiche.

Aimé. 1907. Récherches sur les cellules interstitielles de l'ovaire chez quelques Mammifères. Arch. de Zool. exp. S. 4. T. VII.

Ancel, P. et Bouin, P. 1909. Sur la fonction du corps jaune. Méthodes de récherche. C. r. de la Soc. de Biol. T. LXVI.

—— 1909. Sur la fonction du corps jaune. Action du corps jaune vrai sur l'uterus. Ibidem.

Athias, M. 1906. Sur les phénomènes de sécrétion des cellules des corps jaunes vrais. Congr. intern. de Médécine. Lisbonne. Avril 1906.

Athias, M. 1911. Oberservations cytologiques sur l'ovaire des Mammifères. 1. Les cellules interstitielles de l'ovaire de la cobaye. Anat. Anz. Bd. XXXIX.
—— 1912. L'appareil mitochondrial des cellules interstitielles de l'ovaire du Murin. C. r. de la Soc. de Biol. T. LXXIII.
Benda. 1901. Die Mitochondriafärbung und andere Methoden zur Darstellung der Zellsubstanzen. Verh. der anat. Gesellschaft auf der Vers. in Bonn.
Bouin, P. 1899. Atrésie des follicules de Graaf et formation des faux corps jaunes. Bibl. anat. T. VII.
Bouin, P. et Ancel, P. 1908. Sur le follicule de Graaf mûr et la formation du corps jaune chez la chienne. C. r. Soc. de Biol. T. LXV.
—— 1909. Sur les homologies et la signification des glandes à sécrétion interne de l'ovaire. Ibidem.
Cesa-Bianchi, D. 1908. Di alcune particolarità di struttura e dei fenomeni di secrezione del corpo luteo. Internat. Monatsschr. f. Anat. and Phys.
—— 1907. Osservazioni sulla struttura e sulla funzione della cosidetta «ghiandola interstiziale dell'ovaio». Arch. di Fisiol. Vol. IV.
Chauffard, A., Guy Laroche e Grigaut, A. 1912. Fonction cholestérigénique du corps jaune. Preuves histologiques. Ibidem.
Chiarugi, G. 1885. Ricerche sulla struttura dell'ovaio della lepre. Atti Accad. Fisiocritici Siena. Vol. IV.
Ciaccio, C. 1910. Contributo alla disposizione ed alla fisiologia cellulare dei lipoidi. Arch. f. Zellforsch. Bd. V.
Ciulla. 1909. Le ghiandole a secrezione interna in gravidanza. Palermo.
Cohn, F. 1903. Zur Histologie und Histogenese des Corpus luteum und des interstitiellen Ovarialgewebes. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXII.
—— 1909. Über das Corpus luteum und den atresischen Follikel des Menschen und deren cystische Derivate. Arch. f. Gynäkol. Bd. LXXXVII.
Comes. 1908. Alcuni particolari istologici sugli elementi donde proviene il materiale nutritivo dell'ovocite dei Mammiferi. Arch. ital. di Anat. e di Embr. Vol. VII.
Dubreuil, G. 1911. Les mitochondries des cellules adipeuses. C. r. Soc. de Biol.
—— 1911. Transformation directe des mitochondries et des chondriocontes en graisse dans les cellules adipeuses. Ibidem.
—— 1912. Les mitochondries, forme la plus apte à la multiplication des éléments du chondriome. C. r. de l'Ass. des Anat. 14. Réunion. Rennes.
Duesberg, J. 1910. Les chondriosomes des cellules embryonnaires du Poulet et leur rôle dans la génèse des myofibrilles etc. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV.
—— 1912. Plastosomen, apparato reticolare interno und Chromidialapparat. Ergebn. der Anat. und Entw. Bd. XX. Hft. 2.
Fraenkel, L. 1903. Die Funktion des Corpus luteum. Arch. f. Gynäkol. Bd. LXXVIII.
—— 1905. Vergleichende histologische Untersuchungen über das Vorkommen drüsiger Formationen im interstitiellen Eierstocksgewebe. Ibidem. Bd. LXXV.
Fraenkel e Cohn. 1901. Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß des Corpus luteum auf die Insertion des Eies. Anat. Anz. Bd. XX.
Ganfini. 1908. Sulla struttura e sullo svilluppo delle cellule interstiziali dell'ovaio. Arch. ital. di Anat. e di Embr. Vol. VII.
Kaiserling e Orgler. 1902. Über Auftreten von Myelin in den Zellen. Virch. Arch. Bd. CXLVII.

Levi, G. 1911. Sulla presunta partecipazione dei condriosomi alla differenziazione cellulare. Arch. ital. di Anat. e di Embr. Vol. X.

—— 1912. I condriosomi nelle cellule secernenti. Nota preliminare. Anat. Anz. Bd. XLII.

—— 1912. I condriosomi dei gonociti. Monit. zool. it. Vol. XXIII.

Limon, M. 1902. Etude histologique et histogénique de la glande interstitielle de l'ovaire. Arch. d'Anat. micr. T. V.

Loisel. 1904—05. Les phénomènes de sécrétion dans les glandes génitales. Journ. de l'Anat. et de la Physiol.

Loyez. 1905—1906. Récherches sur le développement ovarien des œufs à vitellus nutritif abondant. Arch. d'Anat. micr. T. VIII.

Meves, F. 1908. Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen. Cytologische Studien am Hühnerembryo. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXII.

—— 1910. Die Strukturen in den Zellen des embryonalen Stützgewebes, sowie über Entstehung der Bindegewebsfibrillen etc. Ibidem. Bd. LXXV.

Montuoro. 1903. Sulle cellule midollari dell'ovaio del coniglio. Arch. di Anat. e di Embr. Vol. II.

Mulon, P. 1906. Evolution des corps osmophiles inclus dans les cellules à luteine du cobaye. C. r. de la Soc. de Biol. T. LXI.

—— 1906. Sur certaines cellules des corps jaunes chez la cobaye. Ibidem.

—— 1909. Sur un corps jaune cystique formé aux depens d'un ovisac non dehiscé. Arch. d'Anat. microscop. T. XI.

—— 1910. Sur une sécrétion lipoide nouvelle de la glande interstitielle ovarienne. C. r. Soc. de Biol.

—— 1912. Sur les corps biréfrangents des glandes génitales. Ibidem.

Niskoubina Nadiejda. 1909. Récherches sur la morphologie et la fonction du corps jaune de la grossesse. Thèse, Nancy.

Paladino, G. 1887. Ulteriori ricerche sulla distruzione e rinnovamento continuo del parenchima ovarico nei Mammiferi. Napoli.

—— 1900. Per la dibattuta questione dell'essenza del corpo luteo. Anat. Anz. Bd. XVIII.

Pflüger. 1863. Über die Eierstöcke der Säuger und des Menschen. Leipzig 1863.

Pinto. 1905. Note istologiche sulle modificazioni delle ovaie in gravidanza. Ann. di Ostetr. e Ginecol.

Popoff, N. 1911. Le tissu interstitiel et le corps jaune de l'ovaire. Arch. de Biol. T. XXVI.

Rabl, H. 1898. Beitrag zur Histologie des Eierstocks des Menschen und der Säugetiere. Anat. Hefte. Bd. XI.

Regaud e Dubreuil. 1906. Récherches sur les cellules interstitielles de l'ovaire chez le lapin. Bibl. anat. T. XXVI.

—— 1908. Karyokinèses tardives dans les cellules lutéiniques des corps jaunes chez la lapine. C. r. de la Soc. de Biol.

Regaud e Policard. 1901. Notes histologiques sur l'ovaire des Mammifères. C. r. de l'Association des Anat. Lyon.

Riquier. 1910. Der innere Netzapparat in den Zellen des Corpus luteum. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXV.

Rubaschkin, W. 1910. Chondriosomen und Differenzierungsprozesse bei Säugetierembryonen. Anat. Hefte. Bd. XLI.

Rubaschkin, W. 1912. Zur Lehre von der Keimbahn bei Säugetieren. Ibidem. Bd. XLVI.

Russo, A. 1909. I mitocondri ed i globuli vitellini nell' occite di coniglia allo stato normale ed in condizioni sperimentali. Atti Accad. Gioenia Catania, Serie 5, Vol. 2°.

—— 1910. Sui mutamenti che subiscono i mitocondri ed i materiali deutoplasmatici dell'oocite di coniglia in diversi periodi di inanizione. Arch. f. Zellforsch. Bd. V.

Sainmont, G. 1906—07. Recherches relatives à l'organogenèse du testicule et de l'ovaire chez le chat. Arch. de Biol. T. XXII.

Schrön. 1863. Beiträge zur Kenntnis der Anatomie und Physiologie des Eierstocks der Säugetiere. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XII.

Sobotta, J. 1896. Über die Bildung des Corpus luteum der Maus. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLVII.

—— 1897. Über die Bildung des Corpus luteum beim Kaninchen. Anat. Hefte. Bd. VIII.

—— 1904. Über die Bildung des Corpus luteum beim Meerschweinchen. Ibidem. Bd. XXXII.

Terni, T. 1911. Sul comportamento dei condriosomi durante le divisioni di maturazione. Arch. ital. di Anat. e di Embr. Vol. X.

Van der Stricht, O. 1901. La ponte ovarique et l'histogenèse du corps jaune. Bull. de l'Acad. Royal de Méd. de Belgique.

—— 1905. La structure de l'œuf des Mammifères. 2. Partie. Structure de l'œuf ovarique de la femme. Ibidem.

Vastarini-Cresi. 1904. »Trophospongium« e canalicoli di Holmgren nelle cellule luteiniche dei Mammiferi. Anat. Anz. Bd. XXIV.

Völker, O. 1905. Über die Histogenese Corporis lutei beim Ziesel. Arch. f. Anatomie.

Waldeyer, W. 1870. Eierstock und Ei. Leipzig.

Wallart. Chemische Untersuchungen über den Luteingehalt des gelben Körpers während der Gravidität (citato da van der Stricht, 1912).

Von Winiwarter et Sainmont. 1912. Nouvelles recherches sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire des Mammifères (chat). Liége, Imprimerie Vaillant-Carmanne.

Zalla, M. 1907. Ricerche sopra la struttura e l'istogenesi della sostanza midollare dell'ovaia. Arch. ital. di Anat. e di Embr. Vol. VI.

Zoja, R. ed L. 1891. Intorno ai plastiduli fucsinofili (bioblasti dell'Altmann). Memorie del R. Istituto lombardo di Sc. e Lett. Vol. XVI. Cl. delle sc. mat. e nat.

Spiegazione delle Tavole.

Tutte le figure, eccezion fatta per le fig. 6 e 34 furono disegnate da preparati fissati in liquido Maximow modificato (vedi pag. 515) e coloriti coll'ematossilina ferrica, previa ossidazione col procedimento Rubaschkin. — I disegni furono eseguiti coll'Obb. Zeiss 2 mm, Apert. 1,40 ed Oc.-Comp. 12 e 18; non soltanto i contorni, ma anche i particolari, nei limiti del possibile, furono disegnati colla camera lucida. — L'ingrandimento fu sempre esattamente calcolato sul tavolo da disegno.

Tavola XXV.

Fig. 1. Da un cordone midollare dell'ovaio di *Vespertilio murinus* adulto. Ingr. 1950×.

Fig. 2. Due cellule follicolari in sezione alquanto tangenziale di un follicolo ad un unico piano di cellule, dell'ovaio di *Vespertilio murinus*. Ingr. 2550×.

Fig. 3. Tre cellule della granulosa di un follicolo vescicoloso dell'ovaio di Mus musculus: tutte e tre le cellule sono colpite dal taglio in corrispondenza dell'equatore, cosicchè soltanto una piccola parte del condrioma appare nella figura. Ingr. 2550×.

Fig. 4. Dalla granulosa di un grande follicolo vescicoloso di un ovaio di *Cavia* adulta.

Delle 5 cellule follicolari riprodotte, una è in mitosi; delle altre quattro, due sono colpite in sezione meridiana, le altre due in sezione tangenziale; notevole è la lunghezza del peduncolo e la sua forma clavata in una delle prime. Ingr. 2900 × circa.

Fig. 5. Cinque cellule follicolari della corona radiata di un grosso ovocita di *Cavia* di 50 giorni di vita extrauterina; le cellule aderiscono colla loro estremità alla membrana pellucida. Ingr. 2550 ×.

Fig. 6. Follicolo con un unico piano di cellule follicolari dell'ovaio di feto di *Bos taurus* dissociato in liquido di Ringer ed esaminato senza ulteriori trattamenti. Anche questo preparato fu disegnato colla camera lucida. — Era stato messo a fuoco il polo superiore del follicolo e perciò solo in questo si distinguevano i condrioconti. Ingr. 1100×.

Fig. 7. Dalla granulosa parietale di un follicolo quasi maturo di *Rhinolophus euriale*: il margine inferiore della figura corrisponde al limite fra granulosa e »teca interna«. Ingr. 1950×.

Fig. 8. Profase con membrana nucleare integra dalla granulosa di un follicolo vescicoloso di *Cavia*; la sezione che colpisce la cellula essendo un po'tangenziale, qualche condrioconto è sovrapposto al nucleo. Ingr. 2900×.

Fig. 9. Profase più inoltrata della precedente da un follicolo di *Cavia*, in sezione equatoriale. Ingr. 2900×.

Fig. 10. Sezione un po'obliqua di una cellula follicolare all'inizio della metafase (*Cavia*). Ingr. 2900×.

Fig. 11. Metafase un po'più inoltrata della precedente (*Cavia*); è visibile il fuso ed i condrioconti sono respinti verso la periferia: il piano di sezione coincide coll'asse del fuso. Ingr. 2900×.

Fig. 12. Sezione tangenziale di una cellula della teca interna in anafase; qualche condrioconto sovrapposto al fuso. Ingr. 2550×.

Fig. 13. Sezione tangenziale di una cellula follicolare (*Cavia*) in anafase; lunghi condrioconti sovrapposti al fuso; incomincia a delinearsi lo strozzamento equatoriale. Ingr. 2550×.

Fig. 14. Sezione un po' tangenziale di una cellula follicolare di *Cavia* in anafase con strozzamente equatoriale; tutti i condrioconti si trovano nel piano equatoriale, sono orientati parallelamente all'asse del fuso e son rigidi; molti di essi son sovrapposti al fuso. Ingr. 2750×.

Fig. 15. Anafase in una cellula follicolare di *Cavia*; il piano di sezione coincide coll'asse del fuso, cosicchè non appaiono all'osservatore i condrioconti ancora indivisi sovrapposti all'asse del fuso. Ingr. 2900×.

Fig. 16. Sezione tangenziale di una telofase di una cellula follicolare di *Cavia*; i condrioconti più superficiali hanno già perduta la loro orientazione paralella all'asse del fuso; alcuni dei più profondi la conservano, pur essendo divisi in due metà. Ingr. 2900×.

Fig. 17. Sezione lievemente tangenziale di una cellula della «teca interna» di un follicolo atresico; i condrioconti superficiali tendono ad abbandonare il piano equatoriale, i più profondi da poco divisi combaciano quasi colle loro estremità. Ingr. 2900×.

Fig. 18 e 19. Telofase in cellule follicolari di *Cavia* nelle quali anche i condrioconti più profondi abbandonano a poco a poco il piano equatoriale. Residuo fusoriale con corpo intermedio. Ingr. fig. 18, 2750×, fig. 19, 2900×.

Fig. 20. Telofase assai inoltrata in una cellula follicolare di *Cavia*; i condriocontri delle due cellule figlie ridivengono sinuosi. Persiste il residuo fusoriale. Ingr. 2900×.

Fig. 21. Tre cellule di un grande follicolo vescicoloso di *Cavia*; una di queste si trova all'inizio della profase (con membrana nucleare integra): nelle altre due è apparsa una grossa sfera ialina (una delle quali contiene una piccola goccia di grasso) nell'area polare; condrioconti lunghi sovrapposti al nucleo. Ingr. 2900×.

Fig. 22. Dalla parte più periferica di un corpo luteo di *Vespertilio mur.* (uovo a 2 pronuclei); una cellula in parte chiara, perchè imbevuta di liquido sieroso, altre contengono gocciole di grasso. Ingr. 1950×.

Fig. 23. Cellula dello stesso corpo luteo della fig. precedente in sezione meridiana; la parte della cellula sovrastante al nucleo (rivolta verso il centro del corpo luteo) imbevuta da liquido sieroso; contiene una goccia lipoide. Ingr. 2550×.

Fig. 24. Cellula come sopra in gran parte imbevuta di liquido siereso e contenente goccie lipoidi. Ingr. 2550×.

Fig. 25. Sezione tangenziale di una cellula come sopra. Ingr. 2550×.

Tavola XXVI.

Fig. 26. Due cellule di un corpo luteo di *Vespertilio murinus* (uovo a 2 blastomeri): una cellula in sezione tangenziale contiene qualche goccia di grasso, l'altra non racchiude nè grasso, nè secreto sieroso. Ingr. 2550×.

Fig. 27. Da un corpo luteo di *Vespertilio murinus* (uovo a 4 blastomeri): quasi tutte le cellule contengono abbondanti e cospicue goccie di grasso: due globuli rossi deformati in un capillare (di cui non si distingue la parete). Ingr. 1950×.

Fig. 28. Cellula dello stesso corpo luteo della figura precedente: poche goccie lipoidi presso il nucleo. Ingr. 2550×.

Fig. 29. Quattro cellule di un corpo luteo di *Rhinolophus euriale* (uovo a 6 blastomeri); condrioconti assai frammentati; molte e voluminose goccie di grasso in due di queste cellule; delle altre due l'una è in mitosi, dell'altra fu colpito dal taglio soltanto un frammento. Ingr. 1950×.

Fig. 30. Cellule dello stesso corpo luteo della figura precedente; contiene goccie di grasso ed una ristretta zona sovrastante al nucleo è imbevuta di secreto sieroso. — In alto la sezione trasversa dell'estremo assottigliato di un'altra cellula. — In basso due cellule connettivali. Ingr. 2550×.

Fig. 31. Cellula di un corpo luteo di *Vespertilio murinus*, corrispondente allo stadio di vescicola blastodermica; è ripiena di goccie lipoidi, con qualche condrioconto; circa nel mezzo si distingue un esile prolungamento del connettivo interstiziale che s'insinua in un'incisura della cellula. Ingr. 1950×.

Fig. 32. Due cellule luteiniche di un corpo luteo di *Cavia* (feto di 15 mm. di lungh.) contenenti molti vacuoli e condrioconti brevi. — Una delle due cellule racchiude una grossa capsula centrale con due centrioli. Ingr. 1950×.

Fig. 33. Cellula luteinica dello stesso corpo luteo della figura precedente (situata nella parte più profonda del corpo luteo). Ingr. 2550×.

Fig. 34. Cellula luteinica di 30 μ di diam. di un corpo luteo fresco di vacca dissociato in liquido di Ringer e disegnato direttamente senza camera lucida.

Fig. 35. Cellule della «teca interna» (tre delle quali in sezione tangenziale) di un grande follicolo ovarico normale di *Cavia* di 40 giorni di vita extrauterina. Ingr. 2550×.

Fig. 36. Dalla «teca interna» di un follicolo ovarico vescicoloso di *Cavia* gravida nel quale s'inizia il processo di atresia: due cellule in mitosi. Ingr. 1950×.

Fig. 37. Dalla «teca interna» di un altro follicolo come sopra: alcune cellule sono ipertrofiche e con condrioconti aumentati. Ingr. 1950×.

Fig. 38. Cellula della «teca interna» di un follicolo di *Cavia* in incipiente atresia, in sezione tangenziale. Ingr. 2550×.

Fig. 39. Due cellule della «teca interna» di un follicolo in incipiente atresia di Coniglia. Ingr. 2550×.

Fig. 40. Tre cellule ipertrofiche della «teca interna» di un follicolo in atresia assai avanzata di *Cavia* di 40 giorni di vita. Ingr. 2550×.

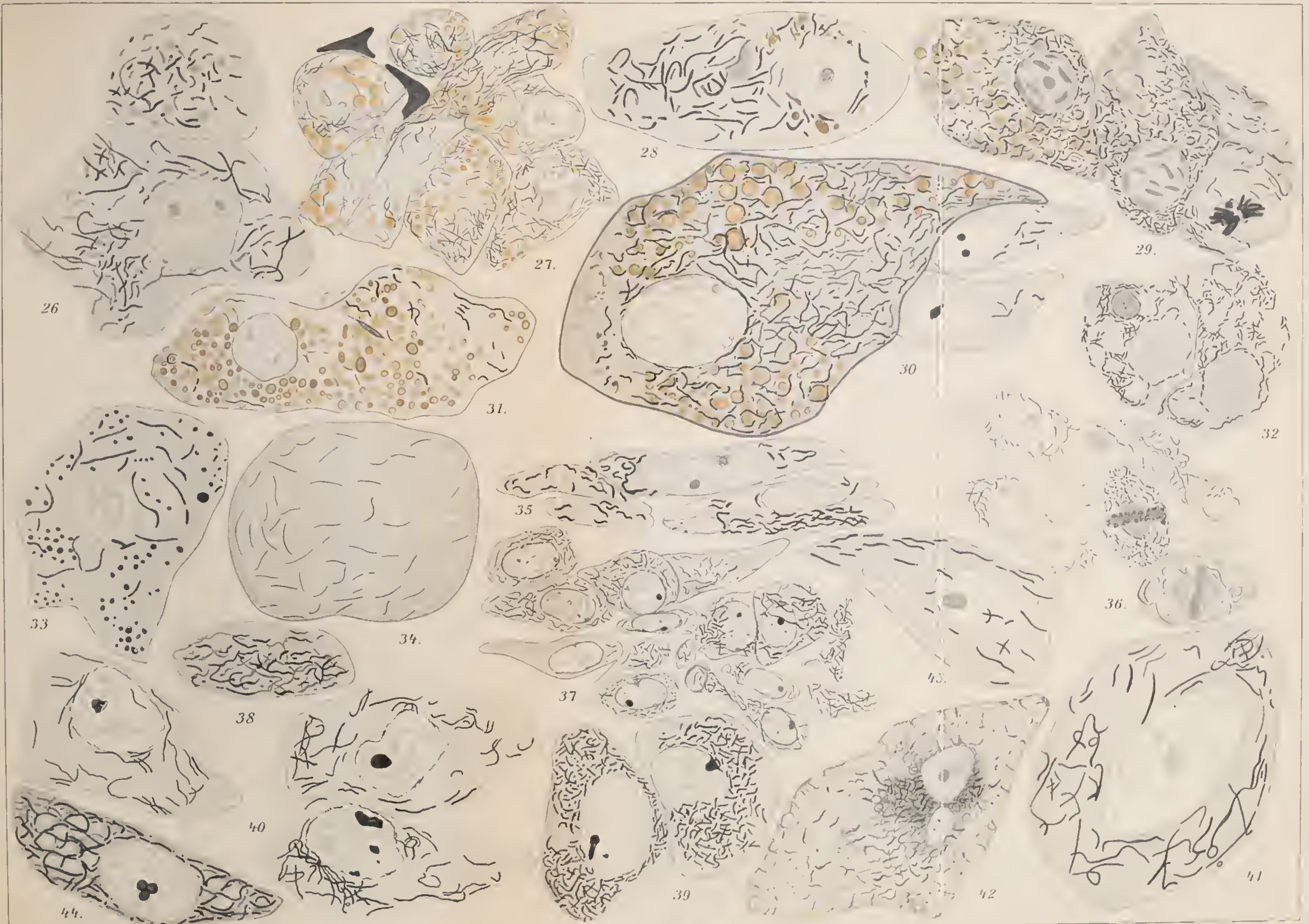
Fig. 41. Cellula enormemente ipertrofica di un follicolo in atresia assai inoltrata (scomparsi anche i residui della granulosa e dell'ovocita) di *Cavia* gravida. Ingr. 2550×.

Fig. 42. Cellula interstiziale della sostanza midollare dell'ovaio di Coniglia. — Presso il nucleo la capsula centrale contenente due centrioli. Ingr. 1950×.

Fig. 43 e 44. Cellule della «teca interna» di un corpo luteo di *Rhinolophus* (uovo a 6 blastomeri): le goccie lipoidi disciolte hanno l'aspetto di vacuoli.



Levi gez. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.


26
27.
28
29.
30
31.
32
33
34.
35
36.
37
38
39
40
41
42
43.
44.

La struttura della cellula cartilaginea.

Per il

Dr. **Antonio Pensa**,

Aiuto e libero docente.

(Istituto di Anatomia umana normale della R. Università di Pavia, diretto dal prof. Luigi Sala.)

Con 4 figure nel testo e tavole XXVII—XXVIII.

Gli osservatori che si occuparono della struttura interna della cellula cartilaginea descrissero formazioni endocellulari che furono e sono tutt'ora oggetto di discussione dal punto di vista del loro significato.

Speciale importanza hanno le ricerche di Flemming (18), che in cellule cartilaginee di larve di tritone descrisse una particolare struttura filamentosa (Filarmasse); quelle di Heidenhain (19) che pure in larve di tritone descrisse una struttura reticolare e formazioni aventi l'aspetto di bastoncini o di anelli, che egli ritenne simili ai suoi pseudocromosomi. A queste ricerche seguirono le mie sulla cellula cartilaginea dei mammiferi (32, 33). Nel 1901 descrissi nelle cellule cartilaginee del gatto adulto la presenza di un particolare apparato reticolare formato da fili variamente ramificati ed intrecciati fra loro somigliantissimo agli apparati reticolari descritti dal Golgi in svariate categorie di cellule nervose ed a quelli che, in quel periodo, io e Negri avevamo descritti in elementi di altra natura (cellule ghiandolari ecc.). Fra le differenze, pur esistenti quantunque mal definibili, fra questo apparato delle cellule cartilaginee e quello di altre cellule, anch'esse non appartenenti al sistemo nervoso, mi colpì specialmente il fatto che in quello i fili del reticolo si estendevano a tutto il corpo cellulare ed era meno facile che in altri elementi di distinguere una parte della cellula od anche un solo orletto periferico libero. Questo fatto fu anche l'argomento in base al quale dovetti escludere che l'apparato da me descritto potesse avere nella cellula cartilaginea rapporti così intimi colla centrosfera quali descrisse in quell'epoca il Ballowitz (5) per i suoi «Centrophormien» e l'Heidenhain (19) per le sue «Centralkapseln». Mentre

ammettevo come probabile che la particolarità di struttura da me descritta corrispondesse alla struttura filamentosa descritta da Flemming nel tritone, facevo notare la utilità di ricerche indirizzate a stabilire quali rapporti esistessero fra le formazioni reticolari dimostrabili colla reazione cromoargentica ed i Centrophormien di Ballowitz, le Centralkapseln ed i pseudocromosomi di Heidenhain ed ancora altre formazioni che ora sono state minuziosamente studiate in moltissimi elementi, ma che allora cominciavano appena ad essere conosciute per opera di Benda e di Meves, le formazioni mitocondriali.

Io lasciai dunque allora la questione in questi termini: dimostrazione, mediante la reazione cromoargentica, in alcune cellule della cartilagine ialina dei mammiferi di un apparato reticolare avente note spiccate di analogia coll'apparato reticolare di Golgi, esteso a tutto il corpo cellulare, non avente rapporti particolari colla centrosfera e quindi, probabilmente, di significato diverso dei «Centrophormien» di Ballowitz e delle «Centralkapseln» di Heidenhain.

Bergen (9) nel 1904 descrisse in cellule della cartilagine ialina della trachea pure del gatto, la presenza, dimostrata col metodo di Golgi e con quello di Kopsch, di un apparato reticolare, ma diverso dal mio: mentre il mio era per lo più a larghe maglie ed esteso a quasi tutto il corpo cellulare, quello di Bergen era a maglie più ristrette, più piccolo e circoscritto ad una parte del corpo cellulare vicino al nucleo. Questo reticolo descritto dal Bergen assomigliava assai più del mio da una parte agli apparati reticolari descritti dagli allievi del Golgi e da altri, quali lo stesso Bergen, in molti elementi non nervosi, e dall'altra ai Centrophormien di Ballowitz.

Smirnow (42) in *Siredon pisciformis*, Loewental (24) nella rana, Retterer (39, 40) in alcuni mammiferi, anfibii e pesci, descrissero nelle cellule cartilaginee granuli e filamenti, con tutta probabilità, di natura mitocondriale: Retterer descrisse anche una disposizione reticolare dei suoi filamenti cromofili. Arnold (1 a 4), nelle cellule cartilaginee specialmente dell'iposternum della rana, descrisse granuli e fili in parte sparsi nel plasma, in parte raccolti a formare un gruppo paranucleare che talvolta assume un aspetto reticolare. Queste formazioni che egli ritiene corrispondano ai mitocondri servirebbero alla assimilazione del grasso e del glicogene. Le formazioni paranucleari, secondo lo stesso Arnold, avrebbero una grande corrispondenza coi «Nebenkerne» (La Valette St. George)» coi «Mitocondrienkörper (Meves)» coi «Phormien di Ballowitz» coi «Pseudochromosomen (Heidenhain)». Duesberg (17) e Meves (27 a 30) nelle cellule cartilaginee embrionali; Samissonow (41) in larve di *Salamandra*, Re-

naut (37) e Dubreuil (15, 16) specialmente nelle cellule globose del processo di ossificazione, Laguesse (22) in larve di *Salamandra*, riuscirono, con metodi diversi, a colorare elementi mitocondriali specialmente sotto forma di condrioconti. Ora Meves (27) sostenne che l'apparato reticolare, da me descritto, sia della stessa natura di quelle formazioni che egli indicò col nome di condrioconti, e che esso sia di natura mitocondriale sostenne pure il Comes (10, 11, 12) il quale riuscì a colorare, col metodo dei mitocondri, l'apparato quale io lo descrissi e cioè sotto forma di reticolo completo, il che non riuscì mai, con tutta probabilità per il materiale di ricerca impiegato, ad altri ricercatori. Anche Dubreuil ammise tale omologia. Meves, Samissonow, Laguesse sostennero, d'altra parte, che anche la «Filarmasse» di Flemming corrisponda al condrioma.

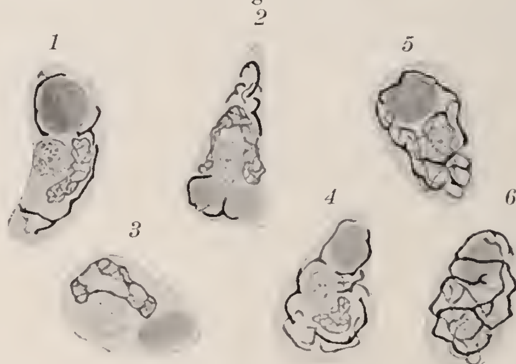
Comes (12) ancora recentemente insistette sulla identità fra il mio apparato reticolare ed il condrioma; ma egli generalizza al punto di ammettere di aver dimostrato che l'apparato reticolare interno di Golgi, in generale, sia di natura mitocondriale e di sostenere che egli, descrivendo la condriodieresi (divisione del condrioma durante la mitosi), abbia implicitamente descritto quello che descrisse Perroncito col nome di dittocinesi (divisione dell'apparato reticolare di Golgi della serie spermatica durante la mitosi). Nel generalizzare, evidentemente, è sfuggita a Comes, prima, l'importanza che aveva il reperto di Bergen in confronto al mio e che poteva far pensare alla presenza, nella cellula cartilaginea, di due apparati reticolari di natura diversa; quindi gli era sfuggito ancora il lavoro di Barinetti (7), assai importante sull'argomento.

Barinetti riuscì a dimostrare nella cellula cartilaginea della cavia e di embrioni di pollo contemporaneamente il condrioma, specialmente sotto forma di condrioconti, ed un reticolo circoscritto ad una piccola parte della cellula, evidentemente il reticolo che descrisse il Bergen. Secondo Barinetti questo piccolo reticolo corrisponderebbe all'apparato reticolare interno di Golgi, ed il mio reticolo corrisponderebbe al condrioma.

Se non che le osservazioni del Barinetti lasciavano ancora qualche punto dubbioso per aver egli usato materiale di osservazione diverso dal mio e per essergli quindi mancata la dimostrazione di un apparato reticolare completo quale quello che ho descritto io nella cartilagine ialina del gatto e parallelamente negli stessi elementi di un apparato reticolare limitato ad una piccola parte del corpo cellulare quale quello di Bergen. Nella esposizione delle mie ricerche dimostrerò appunto che, in alcune delle cellule della cartilagine ialina del gatto adulto, esiste contemporaneamente e il reticolo di Bergen ed il mio; che il reticolo di Bergen si presenta con una forma e disposizione, entro certi limiti, costante nelle

varie cellule di uno stesso individuo, nelle varie età di individui di una stessa specie e nelle varie altre specie di mammiferi che ho studiate; che invece il reticolo da me descritto si presenta come tale solo in alcune delle cellule cartilaginee del gatto e forse di qualche altro animale; e che si possono osservare tutte le forme di transizione da esso a formazioni mitocondriali tipiche (condrioconti, condriomiti, mitocondri); si acquista perciò la piena persuasione che effettivamente l'apparato reticolare che io ho descritto è il condrioma. Esso assomiglia assai a disposizioni reticolari del condrioma che furono anche in altri elementi descritte; ricordo in special modo le immagini osservate da Meves (26) nella spermatogenesi dell' ape e da Mislawsky (25) nelle cellule pancreatiche.

Fig. I^a.



Cellule di cartilagine costale di gatto di 6 mesi (condrioma e reticolo di Bergen). Le grosse sfere in color grigio sono gocciole di grasso. Obb. $^1/_{15}$ imm. omog. oc. 8 comp. Koristka. tubo a 160 mm. (ridotta a $^2/_3$ nella riproduzione). Metodo Golgi-Veratti.

In cellule di cartilagine costale del gatto, di tre e di sei mesi, potei impregnare, col metodo della reazione cromoargentica modificato da Veratti, a seconda del periodo di immersione nella miscela cromo-osmio-platinica e a seconda dei punti dei pezzi immersi, ora la formazione reticolare da me descritta, ora quella descritta dal Bergen: e qui è necessario ora che abbiamo in uno stesso individuo i termini di paragone stabilire le differenze: i fili che compongono il mio apparato reticolare presentano una particolare rigidezza, poche suddivisioni, ma assai evidenti e pure evidentissimi anastomosi: il reticolo si presenta completo e a larghe maglie tanto che la individualità del filo appare con una straordinaria evidenza: è diffuso, come già dissi a tutto il citoplasma giungendo esso assai spesso fino proprio alla periferia del corpo cellulare: Tra le maglie del reticolo stanno comprese grosse bolle di grasso (vedi fig. I^a cellula 5, 6 e tav. XXVII^a fig. 1, 2). Il reticolo che ha descritto il Bergen cor-

risponde perfettamente, per la forma, a quello che viene generalmente indicato col nome di apparato reticolare endocellulare di Golgi e che fu più volte descritto. È più piccolo e circoscritto ad una piccola parte della cellula vicinà al nucleo; i fili che lo compongono sono più grossolani, più irregolari, di decorso e di calibro, di quelli del reticolo da me descritto, e più aggrovigliati fra di loro tanto da formare una massa spesso inestricabile: quindi è meno rilevabile la individualità e la continuità del filo, le sue divisioni ed anastomosi (fig. I^a cellula 3). In qualche punto fortunato potei anche osservare cellule nelle quali la reazione aveva impregnato contemporaneamente il reticolo di Bergen e parzialmente alcuni frammenti del mio (vedi fig. I^a, cellula 1, 2, 4).

Questa è la prova matematica che in alcune cellule della cartilagine ialina del gatto esistono contemporaneamente le due formazioni reticolari. Riguardo alla prima però devo dire che non in tutte le cellule di uno stesso individuo, anzi di uno stesso frammento di cartilagine ialina troviamo la disposizione che ho descritto: in altre cellule, e ciò si osserva specialmente nelle piccole cellule periferiche, invece di aversi una formazione reticolare completa quale io primitivamente l'ho descritta, si hanno immagini molto più frammentarie, fili più o meno lunghi con scarse ramificazioni ed anastomosi, sovrapposti ed intrecciati fra di loro; semplici fili rettilinei o contorti, o a decorso flessuoso, formazioni bacilliformi, granuli sparsi o riuniti in forma di coroncina. Le forme di transizione chiarissime non lasciano dubbio a ritenere che si tratti di modalità diverse di una stessa formazione e precisamente del condrioma sotto i suoi varii aspetti (condrioma di forma reticolare, condrioconti, mitocondri e condriomiti).

Dunque nella cellula cartilaginea del gatto esiste un apparato reticolare diffuso a quasi tutto il corpo cellulare, che, dal punto di vista morfologico, ha una grande somiglianza coll'apparato reticolare interno di Golgi e che è il condrioma della cellula cartilaginea; e un piccolo apparato reticolare circoscritto (quello di Bergen), anch'esso assai somigliante all'apparato reticolare interno di Golgi e in modo particolare ad alcuni degli apparati reticolari che vennero descritti in varii elementi non nervosi e che vengono comunemente indicati anch'essi, come quelli delle cellule nervose col nome di apparati reticolari di Golgi. Volendo stabilire delle vere e proprie omologie, se mancano per ora dati concreti per ammettere o meno una vera omologia tanto fra il mio apparato reticolare e quello di Golgi, quale fu descritto primitivamente da Golgi nelle cellule nervose, quanto fra questo di Golgi e molti apparati reticolari di elementi non nervosi, compreso quello di Bergen, invece con maggiore fondamento può ammettersi una vera omologia, da una parte fra l'apparato da me de-

scritto e il condrioma, in base al fatto che esso può presentarsi sotto varii aspetti che corrispondono alle modalità note del condrioma, dall' altra si può affermare una vera omologia tra il reticolo di Bergen e gli apparati reticolari di varii elementi compresi i Centrophormien di Ballowitz in base ai rapporti colla centrosfera (Barinetti).

Il riavvicinamento dell' apparato reticolare da me descritto a formazioni che hanno i caratteri tipici delle formazioni mitocondriali riesce anche più giustificato dal confronto coi reperti che si hanno in giovani gattini e in gattini neonati.

In gattini di una decina di giorni di vita non si osserva mai nelle cellule della cartilagine costale una formazione reticolare completa come l'ho descritta io nel gatto adulto, ma sempre fili più o meno lunghi per lo più provvisti di numerosi ingrossamenti e terminanti a capocchia, bastoncini, granuli, più o meno grossi isolati o appaiati o disposti in serie a forma di coroncina, forme a biscotto (vedi tav. XXVII[a] fig. 3). In gattini neonati le formazioni descritte presentano particolare finezza; la frammentazione dei fili si presenta anche più spiccata; sono più frequenti i mitocondri sparsi ed isolati, oppure i condriomiti o granuli disposti a coroncina rispetto alle forme di condrioconti le quali prevalgono invece nella età più avanzata (vedi tav. XXVII[a] fig. 4).

La colorazione di questi elementi endocellulari la ottenni anche in preparati di controllo eseguiti col metodo di Benda e con quello di Meves, ma con una certa difficoltà data la difficoltà di ottenere ben fissato il tessuto cartilagineo e la resistenza che presenta, come fu notato anche da altri ricercatori, il condrioma delle cellule cartilaginee, a venir colorato coi metodi comunemente usati per i mitocondri.

Ottenni anche colorazioni parziali col metodo applicato da Renaut e da Dubreuil della immersione di sezioni fresche di cartilagine in liquido isotonico con methilivioiet 5. B.: ottenni così ben colorati e granuli e forme a biscotto e bastoncini e lunghi fili e condrioconti, qualche volta anche fili con accenni a ramificazioni: ma sempre ebbi l'impressione che le formazioni presentassero una grossezza superiore a quella che si osserva cogli altri metodi, credo per un rigonfiamento artificiale delle formazioni stesse.

Tutte le modalità d'aspetto del condrioma possono presentarsi, non solo in varie cellule di uno stesso frammento di cartilagine, ma anche in una stessa cellula. Devo notare che alcuni dei granuli, che appaiono colorati dalla impregnazione metallica, si distinguono per il loro volume particolarmente rilevante: che, accanto ad essi, si trovano gocciole di grasso che non si colorano colla reazione nera, ma che si tingono forte-

mente in nero coll'acido osmico. Mi sono dato premura di vedere se per avventura non potesse ammettersi qui una partecipazione del condrioma alla elaborazione del materiale lipoide e del grasso, che è abbondante nella cartilagine, nel senso che sarebbe ammesso da Prenant (35) per le cellule epatiche, da Dubreuil (14, 16) per le cellule adipose, da Nicolas, Regaud, Favre (31) nelle ghiandole sebacee, da Howen (20) nella mammella da D'Agata (13) in alcuni processi patologici. Eseguendo confronti con preparati eseguiti allo scopo di mettere in evidenza i lipoidi ed il grasso, ho potuto dimostrare nelle cellule cartilaginee del gattino la presenza di granuli lipoidi colorantisi in rosso-orange col metodo I di Ciaccio aventi lo stesso aspetto e le stesse dimensioni dei grossi granuli dimostrati dalla impregnazione metallica: ho potuto anche trattando sezioni nelle quali la reazione cromoargentica era felicemente avvenuta col Sudan III e col Fettponceau, e sorvegliando il periodo opportuno di immersione, ottenere una sovrapposizione di tinta e cioè attenuazione notevole della tinta bruno-nera di alcuni di quei granuli e colorazione in rosso di essi con queste sostanze che colorano con certa elezione i materiali lipoidi così da persuadermi che effettivamente alcuni di quei granuli dovevano effetivamente ritenersi granuli lipoidi. I risultati sono certamente suggestivi; ma pure, per il momento non mi sentirei di ammettere, senza riserva, la partecipazione del condrioma, alla elaborazione del materiale lipoide. È benvero che fra i grossi granuli tingibili col Sudan e col Fettponceau, da una parte, e gli elementi del condrioma, dall' altra, è possibile sorprendere senza sforzo forme che sembrano di transizione; ma non si può ad ogni modo escludere che possa trattarsi di elementi non della stessa natura, mescolati nella cellula e capaci entrambi di assumere la impregnazione metallica.

Posso aggiungere che, talvolta, potei osservare alcuni condrioconti che avevano assunto parzialmente la tinta rossa del Sudan III e del Fettponceau specialmente in corrispondenza degli ingrossamenti che presentavano lungo il loro decorso e delle capocchie terminali: ma qui l'apprezzamento delle intonazioni di colore non era così facile e sicuro da non lasciar luogo a dubbi.

Anche nei gattini giovani potei osservare la simultanea presenza del condrioma e del tenue apparato reticolare descritto dal Bergen e dal Barinetti, circoscritto ad una piccola parte del corpo cellulare, per lo più in vicinanza del nucleo (vedi tav. XXVII^a fig. 24, 25). Con preparati di confronto potei persuadermi che questo tenue apparato reticolare occupa quella stessa area in cui stanno situati i centrosomi. Non mi è possibile dire qui se il reticolo faccia parte proprio della struttura della

centrosfera o se piuttosto sia situato attorno ad essa, in quanto che, nel gatto, i limiti della centrosfera non sono ben definiti, tutt'altro; si tratta di una zona di citoplasma più chiara del resto, nella quale stanno situati i centrosomi, che alla periferia si continua, senza un limite netto. col resto del citoplasma.

Interessante è lo studiare nei gattini giovani, quali aspetti presentano i due apparati nel processo di ossificazione. Essi si comportano in modo così diverso che possiamo ricavare da tale studio nuovi dati che ci permettono di differenziare l'uno dall'altro.

Gli elementi del condrioma nelle cellule discoidali della cartilagine seriata assumono particolare finezza: i fili sono meno lunghi e grossolani: non presentano più ramificazioni: nelle cellule si trovano quasi esclusivamente fini granuli e brevi ed esili bastoncini.

Avvicinandosi alla zona di cartilagine calcificata, studiando le forme di transizione dalle cellule discoidali alle cellule globose, si vede che i granuli e i bastoncini si fanno a poco a poco più grossolani e che le cellule globose sono ripiene di granuli di varie dimensioni; alcuni di questi hanno un volume abbastanza rilevante. — Fa l'impressione che il condrioma abbia subito una frammentazione in granuli dei quali alcuni hanno acquistato particolare grossezza. — Dallo studio con preparati di confronto e dalla applicazione della colorazione col Sudan III e col Fettponceau a sezioni impregnate all'argento si ricava la persuasione che alcuni almeno di questi granuli siano granuli lipoidi; il materiale lipoide ed il grasso in queste cellule globose del processo di ossificazione è assai abbondante, mentre è scarsissimo e quasi assente nelle cellule discoidali, nelle quali il condrioma si presenta formato da elementi di particolare finezza ed esilità; ma d'altra parte manca anche qui la prova decisiva che il condrioma prenda parte alla elaborazione di tale materiale lipoide.

Anche il reticolo di Bergen subisce modificazioni degne di nota nel processo di ossificazione. Nelle cellule discoidali della cartilagine seriata si mantiene di piccole dimensioni e circoscritto per lo più ad una parte del corpo cellulare: sta situato, talvolta, ad un lato del nucleo, talaltra circonda il nucleo a guisa di mezza luna; qualche volta ancora forma due massoline ai due poli del nucleo riunite fra di loro da uno o pochi fili decorrenti a ridosso del margine nucleare. Passando dalle piccole cellule discoidali alle cellule globose, si vede che il reticolo assume dimensioni molto maggiori (vedi tav. XXVII[a] fig. 26): esso si presenta esteso a buona parte del corpo cellulare; i fili che lo compongono assumono anche un calibro maggiore; le ramificazioni e le anastomosi sono più evidenti così che nel suo insieme si presenta coi caratteri di un apparato assai

più complesso di quello delle cellule della cartilagine a riposo e delle piccole cellule discoidali: non si tratta in somma di un apparente ingrandimento di esso per una rarefazione avvenuta in seno ad esso in conseguenza di una contemporanea rarefazione del citoplasma come potrebbe far pensare l'aspetto vacuolare che assumono queste cellule, ma di una vera e propria ipertrofia. In quelle cellule della zona calcificata situata nelle lacune già invase o prossime ad essere invase dai vasi o dagli osteoblasti, il reticolo presenta segni di alterazione: esso si presenta non più costituito da fili a contorni netti e ben impregnati dalla reazione cromoargentica, ma da nastri a margini sfrangiati e mal colorati, irregolarmente ammassati; in altre cellule appare come spezzetato o disgregato in masse irregolari, ma di queste ultime immagini non è prudente tener gran conto perchè non è possibile distinguere quello che corrisponde ad una vera alterazione del reticolo, da quello che può corrispondere ad una parziale o imperfetta impregnazione.

Nella cavia adulta gli elementi mitocondriali hanno la disposizione più comune: essi si presentano in forma di filamenti piuttosto lunghi e flessuosi (condrioconti) spesso moniliformi, sparsi in quella piccola quantità di citoplasma che è lasciata libera dall'enorme accumolo di goccíole di grasso e granuli lipoidi che riempiono letteralmente il corpo cellulare e precisamente in una piccola zona situata in vicinanza del nucleo, alla periferia della cellula e nelle trabecole interposte fra le gocciole di grasso stesse (vedi tav. XXVII[a] fig. 5, 6, 7).

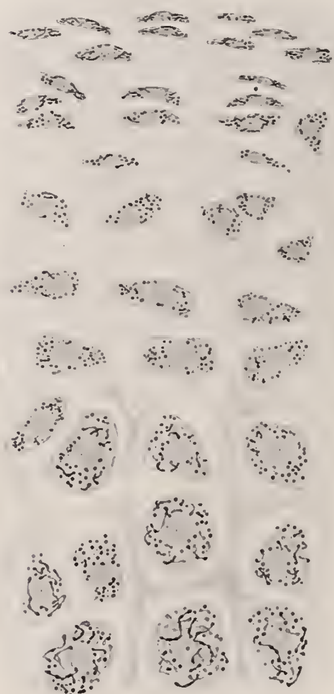
Nelle giovani cavie di pochi giorni di vita il condrioma si colora assai facilmente col metodo Golgi e Veratti ed anche col metodo di Cajal col nitrato d'uranio. Sostanzialmente non presenta grandi differenze rispetto a quanto ho descritto nelle cellule periferiche delle cartilagini costali della cavia adulta: per questo non ripeterò la descrizione per far rilevare dei semplici dettagli che forse non hanno grande importanza, dirò solo che, nelle cellule periferiche, gli elementi che compongono il condrioma, granuli mitocondriali, condrioconti ecc. sembrano più abbondanti e più massicci di quel che non siano nelle cellule centrali, nelle quali, fra i granuli lipoidi e le gocciole di grasso, già assai abbondanti pochi giorni dopo la nascita, stanno sparsi finissimi granuli mitocondriali e condriomiti disposti a rosario tipici e forme bacilliformi pure di particolare finezza.

Nelle cellule periferiche nelle quali con metodi adatti si vede che i granuli lipoidi e le gocciole di grasso sono meno voluminose e meno abbondanti, colla reazione cromoargentica si osserva che insieme a granuli intensamente colorati in bruno-nero, che sono certamente granuli mito-

condriali, si trovano granuli più grossi che assumono una tinta bruna più chiara dei primi. Dal punto di vista delle dimensioni e della colorabilità è possibile osservare forme di transizione fra gli uni e gli altri (vedi tav. XXVII[a] fig. 14, 15).

Il confronto coi preparati dimostranti i lipoidi di tali cellule cartilaginee e l'esame di quei preparati nei quali alla impregnazione cromoargentica si fece seguire la colorazione con Sudan III o con Fettponceau ci inducono ad ammettere che i granuli più grossi e meno colorabili dalla reazione siano granuli lipoidi. Se poi si osservano sezioni di pezzi trattati col metodo GOLGI-VERATTI in glicerina o in gomma sciroppo di APATHY, si vede che alcuni di questi granuli, e precisamente i più voluminosi, sono intensamente tinti in nero dall' azione dell'acido osmico della miscela tripla, come le gocciole di grasso più voluminose che si trovano in maggiore abbondanza nelle cellule centrali; disidratando le stesse sezioni e trattandole con un solvente dei grassi (la trementina), la tinta nera dovuto al tetraossido di osmio sul grasso scompare e i granuli corrispondenti serbano solo una lieve tinta bruna dovuta alla reazione cromoargentica; si presentano come vescicole; i rapporti di parentela, diremo così, fra queste formazioni e i granuli che non assumono la tinta nera col tetraossido di osmio, sono abbastanza evidenti. Ma devo ripetere qui ciò che feci già osservare nel gatto: non è dimostrabile con sufficiente chiarezza che i granuli lipoidi derivino dai granuli mitocondriali, rimanendo sempre il dubbio che possa anche trattarsi di formazioni diverse che si colorano simultaneamente colla reazione nera.

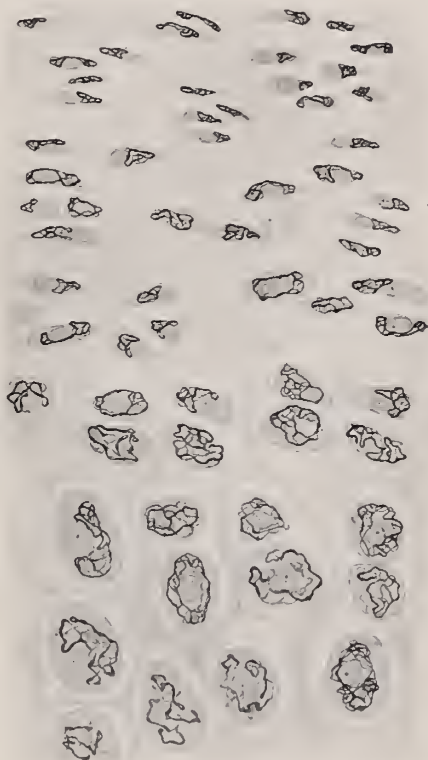
Fig. II[a].



Modificazioni del condrioma nel processo ossificazione di cartilagine costale di cavia di 15 giorni. Obb. $^1/_{15}$ imm. omog. oc. 4 comp. KORISTKA tubo a 160 mm. (ridotta a $^1/_2$ nella riproduzione). Metodo GOLGI-VERATTI.

Le modificazioni che subisce il condrioma nel processo di ossificazione sono ben rappresentate nella fig. IIª e corrispondono, presso a poco, a quanto osservai anche nel gatto. Procedendo dalle piccole cellule discoidali della cartilagine seriata alle cellule globose, si vede che nelle prime prevalgono i granuli mitocondriali isolati e gli elementi bacilliformi piuttosto fini e delicati: avvicinandosi sempre più alla neoformazione ossea, nelle cellule globose il condrioma, in genere, assume proporzioni più ragguardevoli: i granuli e gli elementi bacilliformi sono più massicci e forse più abbondanti; sono frequenti le forme di mitocondri appaiati e di biscotto: si osservano anche bellissimi condrioconti in forma di lunghi fili flessuosi e variamente disposti: questi fili presentando talvolta ingrossamenti lungo il loro percorso assumono aspetto moniliforme: da queste alle forme di fili di granuli disposte a coroncina di rosario gli stadii di transizione sono evidentissimi.

Fig. IIIª.



Modificazioni del reticolo di Bergen nel processo di ossificazione di cartilagine costale di cavia di 15 giorni. Obb. 1/15 imm. omog. oc. 4 comp. Koristka tubo a 160 mm. (ridotta a 1/2 nella riproduzione). Metodo Golgi-Veratti.

Nelle stesse cellule cartilaginee oltre al condrioma si dimostra la presenza dell'apparato reticolare di Bergen. Si possono osservare talvolta anzi cellule nelle quali è contemporaneamente colorato il reticolo e gli elementi mitocondriali, immagini simili a quelle che notò Barinetti e che lo indussero ad ammettere la esistenza nelle cellule cartilaginee delle due formazioni distinte (vedi tav. XXVIIª fig. 12, 13). Il reticolo è in generale circoscritto ad una parte del corpo cellulare; però non sempre sta situato ad un lato del nucleo,

qualche volta lo circonda parzialmente o anche del tutto come una specie di corona: talvolta è assai piccolo, ma in altre cellule può raggiungere anche dimensioni abbastanza cospicue. Ad ogni modo si nota subito, confrontando i preparati nei quali è impregnato colla reazione cromo-argentica il reticolo con preparati eseguiti in modo da mettere in evidenza la centrosfera, che, nella cavia, a differenza del gatto, si presenta come una formazione ben delimitata a contorni definiti, che in generale i reticoli sono più grandi della centrosfera, di modo che riesce ovvio concludere che il reticolo non è strettamente legato alla struttura della centrosfera, ma che almeno in parte quello deve essere da questa indipendente (confrontansi le fig. 27, 28, 29 della tav. XXVII[a] colla fig. 2, 3 della tav. XXVIII[a]).

Le modificazioni che subisce il reticolo nel processo di ossificazione sono simili a quelle che osservai nel gatto, quindi non ripeterò la descrizione, ma mi limito a rimandare il lettore alla osservazione della fig. III[a] facendo notare che nella cavia mi è riuscito di osservare assai chiaramente che nelle cellule globose spesso il reticolo è esteso a buona parte del corpo cellulare e spesso circonda completamente il nucleo.

Negli embrioni di cavia ottenni preparati veramente molto belli e dimostrativi specialmente per ciò che riguarda le modificazioni del condrioma in rapporto al processo di ossificazione.

Nelle cellule cartilaginee, diciamo così a riposo, dei dischi vertebrali di embrioni di cm. 9 di lunghezza, le formazioni mitocondriali in forma di granuli, di banstoncini, di condrioconti di varia lunghezza, non sono molto abbondanti ma piuttosto grossolane relativamente alle dimensioni degli elementi cellulari nei quali stanno situate. Passando nello strato delle cellule discoidali, a poco a poco, gli elementi mitocondriali assumono, in queste cellule, particolare finezza e, nelle cellule globose, il condrioma assume proporzioni veramente assai ragguardevoli. Si tratta di un accumolo veramente molto grande di granuli sparsi o appaiati o disposti in serie, di bastoncini, di forme a biscotto, di abbondanti e bellissimi condrioconti variamente disposti, spesso sovrapposti ed intrecciati fra di loro: qualche volta non si tratta di fili semplici; ma questi possono presentare anche ramificazioni cosicchè in alcuni punti la sovrapposizione di questi fili ramificati può simulare anche la esistenza di un reticolo (vedi tav. XXVII fig. 21).

Riesce certamente molto evidente l'abbondanza e lo sviluppo enorme che hanno assunto gli elementi mitocondriali nelle cellule globose, fatto che del resto rilevai anche nelle cavie, nella vita postembrionale, ed ebbi occasione di osservare anche in altri animali.

Se il condrioma è un elemento, come è ovvio pensare, essenzialmente vitale del citoplasma, si deve pur ammettere che queste cellule della zona calcificata, non possono essere ritenute semplicemente cellule in via di distruzione e prossime a morire, ma piuttosto in uno stato di attività non trascurabile. — Io non voglio entrare per ora nella questione, quale possa essere la funzione di tali cellule, ma in linea generale, mi associo alla opinione alla quale, in base ad altri fatti, giunsero Retterer (39), Renaut e Dubreuil (36, 38, 16) che ammettono per queste cellule una vera sovraattività funzionale.

Il reticolo di Bergen negli embrioni di cavia, a questo stadio, presenta caratteri di grande semplicità ed è sempre, anche nelle cellule globose, circoscritto ad una piccola parte del corpo cellulare.

Con questo materiale embrionale ottenni ancora buoni preparati di controllo col metodo di Meves (tav. XXVIII fig. 1). Anche con questo metodo potei colorare gli elementi mitocondriali e specialmente nelle cellule globose ottenni immagini corrispondenti, per quanto meno complete e meno nitide, a quelle ottenute colla impregnazione cromoargentica. Notai che, col metodo di Meves, gli elementi del condrioma non si colorano tutti allo stesso modo; alcuni assumono una tinta spiccatamente bleu nera colla ematossilina ferrica, altri una tinta molto più chiara, grigio azzurrognola; ed anche la tinta che assumono i singoli fili o condrioconti non è omogenea in tutta la loro estensione ma, a tratti, più chiara o più oscura. Colla ematossilina ferrica si colorano molti granuli che corrispondono certamente, almeno in gran parte, a quelli che si colorano in nero colla impregnazione cromoargentica. Alcuni di questi granuli sono intensamente colorati, altri molto più pallidi e questi, di solito, sono i più voluminosi e, con tutta probabilità, corrispondono a granuli lipoidi; sfugge però anche qui la dimostrazione che questi derivino in linea diretta dagli elementi proprii del condrioma.

Della cavia studiai anche le cartilagini della laringe dove osservai, sostanzialmente, le stesse cose che notai per le cartilagini costali. Fermerò però ora l'attenzione solo sopra una particolare disposizione del condrioma che osservai in cartilagini tiroidee di cavia di circa 10 giorni col metodo di Cajal al nitrato di uranio: si tratta di un condrioma formato essenzialmente da bellissimi fili (condrioconti) qualcuno dei quali presentante anche ramificazioni. Ma ciò che particolarmente interessa e merita di essere descritto è lo speciale orientamento di tutti gli elementi del condrioma, come se fossero attratti in corrispondenza di un determinato punto della cellula a lato del nucleo. In questo punto la stessa reazione argentica mette in evidenza la presenza di una massa roton-

deggiante omogenea circoscritta che, senza dubbio, corrisponde alla centrosfera (tav. XXVII fig. 16, 17, 18). Evidentemente si tratta di una azione nettamente polarizzante del centrosoma (centrotaxie di Winiwarter) sugli elementi del condrioma che fu osservata anche da altri autori (Dubreuil [16], Weber [43] ecc.) in altri elementi (cellule connettivali, leucociti).

Pure nelle cartilagini tiroidee col metodo Cajal al nitrato di uranio, con modalità diverse di immersione nei varii reattivi, misi in evidenza il reticolo di Bergen. Devo dire che in alcune cellule tale apparato reticolare è assai piccolo e circoscritto tanto che si potrebbe anche pensare fosse limitato alla zona corrispondente alla centrosfera; ma in altre cellule ha dimensioni invece molto maggiori, è esteso a buona parte del corpo cellulare, può circondare parzialmente o anche totalmente il nucleo (tav. XXVII fig. 30).; in qualche caso è costituito da massoline reticolari riunite fra di loro da fili di congiunzione; in qualche altro caso da una massa reticolata anche piuttosto circoscritta ma provvista di fili che, staccandosi da essa, si estendono largamente nel resto del corpo cellulare, ad ansa, per ritornare a far parte della massa principale. Mi sono convinto che le forme di reticolo assai circoscritto si trovano specialmente negli stati profondi e precisamente in quelle cellule che son letteralmente ripiene di gocciole di grasso: in quella piccola massa di citoplasma non occupata dal grasso è confinato il reticolo e i centrosomi colla centrosfera di modo che, necessariamente, il reticolo deve essere molto piccolo ed avere rapporti particolarmente intimi colla centrosfera.

Immagini molto istruttive sorpresi in alcune cellule nelle quali era contemporaneamente colorata la centrosfera, in forma di un corpo rotondo omogeneo tinto in bruno, e porzioni di reticolo estese al citoplasma al di là dei limiti della centrosfera (tav. XXVII fig. 22). In qualche cellula poi osservai reticoli composti da una massa fitta centrale corrispondente per posizione e per dimensioni alla centrosfera e da una porzione periferica, a maglie più larghe, estesa al citoplasma circostante: una parte di esso soltanto, con tutta probabilità quindi assume, colla centrosfera, rapporti particolarmente intimi: non è da escludersi anche che fra questa porzione del reticolo e la centrosfera esista una vera compenetrazione (tav. XXVII fig. 23).

In ultima analisi io credo che il fatto di presentarsi il reticolo limitato ad una piccola parte del corpo cellulare e precisamente ad una zona situata in vicinanza del nucleo; di essere, in alcune cellule, particolarmente circoscritto ad una zona molto ristretta, dipende da due fattori, dei quali l'uno non è altro che l'accumolo dei lipoidi e delle gocciole di grasso che,

come abbiamo visto, lascia libera solo una piccola porzione del citoplasma nella quale devono trovar posto due formazioni citoplasmatiche (centrosfera e reticolo). Non è poi da trascurarsi l'altro fattore e cioè l'azione esercitata dalla presenza dei centrosomi, la cui influenza modificatrice sul citoplasma è già nota e che noi abbiamo or ora visto esplicarsi in modo molto netto e chiaro sopra altri elementi citoplasmatici, gli elementi del condrioma. È la stessa azione che determina, d'altra parte sempre in quella stessa zona di citoplasma in vicinanza del nucleo che non è occupata da materiali di elaborazione cellulare, la presenza di quella formazione che si mette in evidenza con metodi di colorazione adatti (fis. in liquido di Flemming o sublimato acetico, colorazione colla ematossilina ferrica) e che viene indicata col nome di centrosfera. Quello che ancora deve dimostrarsi è se esiste una compenetrazione di una parte del reticolo colla centrosfera stessa.

In cartilagini costali di conigli di pochi giorni di vita osservai pressapoco gli stessi fatti che descrissi nella cavia alla stessa età tanto riguardo al condrioma, quanto al reticolo di Bergen. Faccio solo notare che mentre gli elementi mitocondriali delle cellule delle cartilagini costali della cavia sono per lo più granulari oppure in forma di brevi o tozzi filamenti o bastoncini, invece nel coniglio prevalgono le forme filamentose variamente disposte ed accumulate nella cellula, così da simulare anche, qualche volta, la presenza di una vera formazione reticolare: se quà e là si può osservare qualche ramificazione dei fili, non potei però mai verificare la esistenza di un reticolo completo e concreto quale descrissi nel gatto: si tratta di immagini più che altro apparentemente reticolari dovute alla sovrapposizione di condrioconti variamente ripiegati e contorti e qualche volta ramificati.

Nelle cellule discoidali della cartilagine seriata il condrioma assume carattere di particolare finezza: è costituito in prevalenza da fili (condrioconti) assai fini e flessuosi, anche qui variamente disposti ed accumulati in modo da simulare talvolta la esistenza di un reticolo. Passando gradatamente alla zona delle cellule globose si vede che gli elementi mitocondriali si fanno più brevi e più tozzi e, nelle cellule globose più vicine alla formazione ossea, non si trovano che granuli sparsi assai numerosi e di dimensioni varie.

Nel bue e precisamente in embrioni di cm. 20, 26 di lunghezza e in feti di sei e di sette mesi ottenni, in cartilagini costali e in dischi vertebrali, reperti positivi tanto col metodo della reazione cromoargentica Golgi-Veratti, quanto col metodo di Cajal al nitrato di uranio (tav. XXVII fig. 8, 9, 10). Anche in questo materiale potei seguire le modificazioni che

subiscono gli elementi mitocondriali nel processo di ossificazione. Essi, che nelle cellule della cartilagine ialina a riposo si presentano in forma di granuli di varie dimensioni, di bastoncini e di fili per lo più irregolari e contorti, subiscono, nelle varie zone corrispondenti al processo di ossificazione, nelle linee generali, le stesse modificazioni che ho descritte per gli altri animali: però nel bue gli elementi mitocondriali anche nelle cellule globose, non si presentano mai in forma di fili lunghi ed abbondanti come notai nella cavia e specialmente negli embrioni di cavia: si tratta, per lo più, di granuli e di bastoncini brevi e tozzi.

Parallelamente alle modificazioni che subisce il condrioma, seguii, nei feti di vitello di 6 e di 7 mesi, le modificazioni del reticolo di Bergen in rapporto al processo di ossificazione. Questa formazione potei dimostrarla nelle cellule a riposo, nelle cellule discoidali della cartilagine seriata, e in quelle della zona di transizione fra la cartilagine seriata e le cellule globose: nelle cellule globose più voluminose e più vicine alla neoformazione ossea, non ottenni reperti positivi o almeno ottenni colorazioni così poco decise e frammentarie da non poterne tener conto non essendo possibile stabilire se tali immagini corrispondevano ad una incompleta reazione o a fatti di alterazione del reticolo.

Il reticolo piccolo e circoscritto nelle cellule a riposo e nelle cellule discoidali diventa molto più voluminoso nelle cellule della zona di transizione alle cellule globose nelle quali si estende a buona parte del corpo cellulare: i fili che lo compongono più grossi, meno ammassati si seguono con maggiore facilità nelle loro inflessioni e se ne possono sorprendere con maggiore sicurezza le ramificazioni e le anastomosi.

Devo notare qui un particolare atteggiamento del reticolo di questa categoria di cellule che vidi ripetersi con una certa frequenza e che perciò non è da trascurarsi e da considerare come una semplice accidentalità. Si tratta della esistenza di tenui fili, molto più sottili dei fili componenti il reticolo di questi anche più omogenei e rigidi, terminanti talvolta a bottoncino, i quali, staccandosi dal reticolo, col quale hanno veri rapporti di continuità, si estendono per un certo tratto in quella parte del citoplasma non occupata dal reticolo (tav. XXVII fig. 31, 32, 33).

Può venire il sospetto che possa ciò equivalere alla dimostrazione di rapporti di continuità fra il reticolo di Bergen e gli elementi del condrioma, i quali non infrequentemente presentano appunto l'aspetto di tenui filamenti: ma non credo di dover annettere a quel reperto tale significato nel caso speciale perchè in queste cellule gli elementi mitocondriali non si presentano in forma di fili, ma piuttosto in forma di granuli o di bastoncini brevi e tozzi.

Delle cartilagini costali e dei dischi vertebrali di embrioni di 20 mm. di lunghezza eseguii preparati di confronto anche col metodo di Meves col quale ottenni colorati, quanlunque con maggiore difficoltà e con minore chiarezza, gli elementi mitocondriali essenzialmente colle stesse modalità di forma e di disposizione rivelatemi dalla reazione cromoargentica.

Sotto un certo punto di vista, interessante è il comportamento del condrioma in rapporto al processo di ossificazione che osservai in embrioni di porco di 11 cm.

Gli elementi mitocondriali nelle cellule della cartilagine lontana dalla neoformazione ossea, a riposo, si presentano in forma di granuli, di bastoncini, di forme a biscotto e di fili non molto lunghi sparsi irregolarmente nella cellula e spesse volte ammassati in piccoli accumoli variamente disposti, accumoli nei quali però riesce possibile distinguere la individualità dei singoli elementi che li compongono (tav. XXVII fig. 11).

Nelle cellule discoidali della cartilagine seriata anche qui gli elementi mitocondriali assumono particolare finezza ed avvicinandosi alla cartilagine calcificata si osserva che il condrioma va assumendo nelle cellule sempre proporzioni più ragguardevoli; tanto che nelle cellule globose in vicinanza della neoformazione ossea esso è costituito da grossi granuli sparsi od appaiati o disposti in piccoli accumoli, da forme di bastoncino, di biscotto e di lunghi fili i quali, in queste cellule sono molto abbondanti; alcuni di questi fili presentano anche ramificazioni; si aggiungono pure forme di cerchiello semplice e duplice: in somma gli elementi del condrioma assumono le forme e le disposizioni più svariate: alle estremità e lungo il percorso dei fili e dei bastoncelli si osservano ingrossamenti che talvolta imprimono a tali elementi un aspetto moniliforme.

Il particolare degno di maggior rilievo e che dà al condrioma delle cellule globose della cartilagine del processo di ossificazione dell'embrione di porco una impronta caratteristica, è che alcuni fili o alcuni bastoncelli presentano alla loro estremità piccoli accumoli di granuli che appaiono come piccoli grappoletti appesi agli elementi in parola: questi non sono dissimili da quei piccoli accumoli di granuli che si osservano anche indipendenti nelle stesse cellule (tav. XXVII fig. 19, 20). Nelle cellule più profonde in quelle cioè situate nelle lacune già invase o prossime ad essere invase dai vasi e dagli osteoblasti, si osservano granuli più grossolani sparsi o disposti anch'essi in piccoli accumoli i quali evidentemente derivano dalle formazioni mitocondriali in linea diretta. Devo notare che nei preparati eseguiti parallelamente per la dimostrazione del materiale lipoide, si vede che queste stesse cellule sono assai ricche di granuli lipoidi, che,

pur essi, hanno una speciale tendenza a disporsi in piccoli accumoli che ricordano perfettamente gli stessi accumoli di granuli che la impregnazione cromoargentica mette in evidenza colorati in nero. Questi particolari sono assai suggestivi e appoggerebbero l'idea della partecipazione del condrioma alla elaborazione del materiale lipoide. Le stesse formazioni colle stesse particolarità di forma e di disposizione mi apparvero colorate colla ematossilina ferrica applicando il metodo di Meves.

Ho parlato fin qui del condrioma e del reticolo descritto e studiato dal Bergen e dal Barinetti come di due formazioni nettamente distinte

Fig. IVa.



Rapporti fra condrioma e reticolo di Bergen in cellule di cartilagine costale di gatto di 10 giorni. Obb. 1/15 imm. omog. oc. 8 comp. tubo a 160 mm. (ridotta a 2/3 nella riproduzione). Metodo Golgi-Veratti.

ed infatti esse coesistono in una stessa cellula ed hanno ciascuna un comportamento loro proprio che permette di riconoscerle anche attraverso a tutte le modificazioni che subiscono nel processo di ossificazione. Pure a più riprese durante il corso delle mie ricerche mi si è presentata la domanda se reticolo e condrioma abbiano o non abbiano per nulla rapporti in comune.

Una sovrapposizione topografica di elementi del condrioma e del reticolo è ovvio ammetterla a priori in base al reperto descritto a proposito delle cellule della cartilagine tiroidea di cavia e rappresentato a fig. 16, 17, 18 delle tav. XXVII dove i condriosomi sono ammassati in prossimità della centrosfera e precisamente nella stessa area che è occupata anche dal reticolo. Ma di altri fatti devo tener conto alquanto impressionanti.

In alcuni preparati di cartilagini costali di gattino giovane di circa 10 giorni di vita, col metodo Golgi-Veratti, ottenni la impregnazione simultanea del reticolo di Bergen e del condrioma. In questi preparati si possono osservare, anche in uno stesso campo, cellule col reticolo colorato esclusivamente, (fig. IV^{a} cellule 1, 2, 3) cellule coi soli elementi mitocondriali, cellule col reticolo e qualche frammento degli elementi mitocondriali; ma le immagini più interessanti sono quelle date da cellule nelle quali filamenti, appartenenti con sicurezza al condrioma, confluiscono in una massa circoscritta, situata in prossimità del nucleo, nella quale la penetrazione microscopica non permette di distinguere ciò che appartiene al condrioma e ciò che appartiene al reticolo: vi si sorprendono quà e là dettagli ora dell' una, ora dell' altra formazione; ma non di più (fig. IV^{a} cellule 4, 5, 6, 7, 8, 9). Di modo che, volendo essere puramente obbiettivi, si può dire che se ne ricava l'impressione che qui esista almeno una sovrapposizione topografica del condrioma e del reticolo, una vera compenetrazione degli elementi che compongono l'una e l'altra formazione. Sono rapporti certamente molto intimi; ma non sono però dimostrabili veri rapporti di continuità.

In parecchie cellule delle cartilagini costali di un gatto di due mesi, vidi con chiarezza una vera continuità dei fili del condrioma a disposizione reticolare coi fili di un piccolo e circoscritto reticolo situato a lato del nucleo; ma, sventuratamente, non mi è possibile dichiarare se il piccolo reticolo circoscritto posse realmente il reticolo di Bergen oppure una porzione del condrioma addensata in modo da assomigliare stranamente al reticolo di Bergen. Ad ogni modo, anche qui, si tratta almeno di rapporti topografici assai stretti fra le due formazioni avendo tale addensamento la stessa posizione del reticolo di Bergen.

Riguardo al comportamento, durante il processo di proliferazione cellulare, delle formazioni che ho descritto, condrioma e reticolo di Bergen, dirò che di quest'ultimo non ho raccolto dati sufficienti per portare un contributo personale a quanto in linea generale si ammette che avvenga dell'apparato reticolare interno di Golgi e che Barinetti osservò anche per le cellule cartilaginee, confermando il fenomeno della dittocinesi descritto da Perroncito (34). Voglio invece per ora soffermarmi di più sul comportamento del condrioma. Comes (11) nelle cellule cartilaginee descrisse, durante la mitosi, un processo alquanto complicato di condriodieresi che io nel materiale da me studiato, embrioni di bue di 20 o 30 cm. di lunghezza, embrioni di maiale di 11 cm. non potei verificare integralmente quale da questo autore è descritto. Il Comes descrive nella profase un addensamento del condrioma in masse compatte, quindi una disgregazione di tali

masse o condriosomi in mitocondri; nella metafase un ordinamento dei mitocondri sulle fibre di un mantello mitocondriale avvolgente il fuso sotto forma di condrioconti; nell'anafase un nuovo condensamento, nelle cellule figlie dei mitocondri, in un condriosoma unico o paranucleo. Io dubito che, nella ricostruzione del suo schema, il Comes abbia avuto sott'occhio elementi disparati e cioè elementi mitocondriali e elementi del reticolo che descrisse il Bergen, il quale è spesso circoscritto in modo da apparire talvolta, specialmente in preparati colorati con metodi non adatti per la sua dimostrazione, come un corpo paranucleare. — Sta il fatto che io, in nessuna delle fasi della mitosi, non potei mai osservare un addensamento del condrioma. Nella tavola XXVIII dalla fig. 4 alla fig. 15 ho disegnato i varii stadii che osservai in embrioni di maiale. Nelle cellule a riposo (fig. 4, 5, 6, 7) il condrioma si presenta prevalentemente in forma di fili (condrioconti) sparsi senza ordine nel corpo cellulare, spesso disposti quà e là in piccoli accumoli che possono anche simulare la esistenza di un reticolo. Nelle cellule 8, 9 in cui è iniziato il movimento nucleare (e quindi al principio della profase) si osservano ancora alcuni fili, ma prevalgono le forme di mitocondri granulari o di bastoncini brevi e tozzi: si osservano anche granuli appaiati o disposti in serie, forme a biscotto: nella metafase e cioè nelle cellule allo stadio di aster o di piastra equatoriale (fig. 10, 11) si osservano solo forme granulari o di brevissimi e tozzi bastoncini; essi sono disposti assai uniformemente nella cellula ed in modo da lasciar libera una larga zona circondante gli elementi nucleari: la stessa disposizione mantengono i mitocondri nella anafase e quindi allo stadio di diaster della cellula 12: anche qui non occupano la zona occupata dai cromosomi e dal fuso. Nella telofase i mitocondri, sempre in forma di granuli o di brevissimi bastoncelli. si dispongono attorno ai due ammassi di cromosomi presentando una certa tendenza ad accumularsi in prossimità del tratto di divisione cellulare (13, 14). Mentre il nucleo delle cellule figlie passa allo stato di riposo, tornano a prevalere le forme di filamenti o di condrioconti (15). I fatti corrisponderebbero in somma assai più a quelli che osservarono e descrissero in altre cellule somatiche il Meves (28, 29) e specialmente il Levi (23) che non a quelli esposti dal Comes. Che avvenga una vera disgregazione dei condrioconti in granuli per divisione lo ammetto anch'io, come lo ammette il Levi, notando, che i condriosomi sono nelle cellule figlie in numero approssimativamente uguale a quello delle cellule a riposo ed ancora per il fatto che i granuli mitocondriali, durante il processo di mitosi, sono in numero assai maggiore di quel che non siano i condriosomi di varia forma che si osservano nelle cellule a riposo. Le

forme a biscotto, le forme di aspetto moniliforme, di granuli appaiati e disposti in serie, ed ancora le forme che osservò anche il Levi di granuli riuniti da un tratto di sostanza meno intensamente colorata di essi, che si osservano al principio della profase, credo che siano appunto l'esponente morfologico di questa disgregazione.

Conclusioni.

Nella cellula della cartilagine ialina dei mammiferi esiste il condrioma e l'apparato reticolare descritto dal Bergen.

Il condrioma presenta varii aspetti nelle varie cellule di uno stesso individuo, in individui di età diverse e di specie diverse. Può in casi speciali disporsi in forma di reticolo completo, il che osservai, nel modo più evidente, nel gatto dopo il 3° mese di vita. L'apparato reticolare che io descrissi nel 1901 rappresenta appunto questo particolare atteggiamento del condrioma.

Il reticolo di Bergen si presenta costantemente in forma di reticolo nelle varie cellule di uno stesso individuo, nelle varie età e nelle varie specie.

Nel processo di ossificazione, le due formazioni, condrioma e reticolo di Bergen presentano ciascuna per conto proprio notevoli modificazioni le quali ci forniscono altri dati per differenziare l'una dall'altra.

Dal punto di vista morfologico tanto l'apparato reticolare da me descritto, quanto l'apparato reticolare descritto dal Bergen, presentano note di analogia coll' apparato reticolare interno di Golgi. — Trattandosi di stabilire delle vere e proprie omologie esistono dati per ammettere che il reticolo da me descritto è omologo al condrioma, che il reticolo di Bergen è omologo agli apparati reticolari che furono descritti in molti elementi non nervosi, compresi i Centrophormien di Ballowitz, ma non esistono finora dati concreti nè per amettere nè per negare in modo assoluto una omologia fra l'apparato reticolare da me descritto e l'apparato reticolare interno quale lo descrisse primitivamente il Golgi nelle cellule nervose, oppure fra questo e gli apparati reticolari che furono descritti in molti elementi non nervosi, compreso quello di Bergen, e che vengono generalmente indicati anch'essi col nome di apparati reticolari interni di Golgi.

Esistono rapporti topografici, ben dimostrabili, fra il reticolo del Bergen e la centrosfera; però il reticolo si estende nel citoplasma anche al di fuori dell'area corrispondente alla centrosfera. In casi speciali ho potuto osservare anche rapporti fra la centrosfera e gli elementi del condrioma.

Ho potuto verificare talvolta rapporti fra il condrioma ed il reticolo di Bergen, una vera compenetrazione degli elementi del condrioma col

reticolo, si tratta almeno di rapporti topografici molto intimi non avendo potuto dimostrare rapporti di continuità.

Alcuni fatti farebbero pensare che gli elementi mitocondriali prendano parte attiva alla elaborazione del materiale lipoide, ma non avendo potuto eliminare alcuni dubbi in proposito, non posso ammettere ciò come cosa completamente dimostrata.

È da augurarsi che si possa anche stabilire se esista o meno qualche cosa di comune fra gli elementi mitocondriali e i granuli descritti da Renaut e da Dubreuil e che essi mettono in rapporto colla cosidetta funzione ragiocrina delle cellule cartilaginee.

Riguardo ai granuli ed ai fili di Arnold, secondo il quale essi servirebbero alla assimilazione del grasso e del glicogene, dalla descrizione che ce ne dà questo osservatore si ha l'impressione che, parte di essi, siano elementi mitocondriali: quando però egli parla di corpi paranucleari che assumono un aspetto reticolare e che hanno una grande corrispondenza coi Nebenkerne, coi Mitochondrienkörper, coi Phormien e cogli Pseudochromosomen, vien fatto di pensare che talvolta si sia trovato davanti a imperfette colorazioni del reticolo del Bergen. Ad ogni modo anche su questo punto sarebbero necessarie ricerche di controllo.

Secondo le osservazioni di Barinetti, il reticolo della cellula cartilaginea durante la mitosi si suddividerebbe secondo quelle norme che vennero descritte da Perroncito nella serie spermatica della *Paludina vivipara* e che caratterizzano quel fenomeno che questi indicò col nome di dittocinesi.

Riguardo alla suddivisione del condrioma durante la mitosi o condriodieresi, osservai che il condrioma si disgrega in un gran numero di granuli o elementi mitocondriali assai brevi e tozzi i quali si distribuiscono uniformemente nella cellula madre e quindi nelle cellule figlie: in queste gli elementi mitocondriali stessi, tornano ad assumere la forma e la disposizione che essi avevano nella cellula madre a riposo.

Consegnato per la stampa il 16 luglio 1913.

Bibliografia.

1. ARNOLD, J. Plasmosomen, Granula, Mitochondrien, Chondriomiten und Netzfiguren. Anat. Anzeiger. Bd. XXXI. S. 640. Jena 1907.
2. —— Supravitale Färbung mitochondrienähnlicher Granula in den Knorpelzellen. Anat. Anzeiger. Bd. XXXII. S. 361. Jena 1908.
3. —— Zur Morphologie des Knorpelglykogens und zur Struktur der Knorpelzellen. VIRCHOWS Archiv f. path. Anat. und Physiol. Bd. CXCIV. S. 266. Berlin 1908.
4. —— Das Plasma der somatischen Zellen im Lichte der Plasmosomen-Granulalehre und der Mitochondrienforschung. Anat. Anzeiger. Bd. XLIII. S. 433. Jena 1913.
5. BALLOWITZ, E. Über das Epithel der Membrana elastica posterior des Auges, seine Kerne und eine merkwürdige Struktur seiner großen Zellsphären usw. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LVI. S. 230. Bonn 1900.
6. —— Eine Bemerkung zu dem von GOLGI und seinen Schülern beschriebenen «Apparato reticolare interno» der Ganglien und Drüsenzellen. Anatom. Anzeiger. Bd. XVIII. S. 177. Jena 1900.
7. BARINETTI, C. L' apparato reticolare interno e la centrosfera nelle cellule di alcuni tessuti. Boll. Soc. med.-chir. di Pavia. p. 289. 1912.
8. BENDA. Weitere Mitteilungen über die Mitochondria. Verhandl. d. Physiol. Gesell. zu Berlin. Jahrg. 1899.
9. BERGEN, J. Zur Kenntnis gewisser Strukturbilder (Netzapparate, Saftkanälchen, Trophospongien) im Protoplasma verschiedener Zellarten. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXIV. S. 498. Bonn 1904.
10. COMES, S. Sulla natura mitocondriale dello «apparato reticolare« delle cellule cartilaginee. Boll. Accad. gioenia di Scienze naturali. Fasc. 6. Serie II. Catania 1909.
11. —— La partecipazione dei mitocondri alla formazione della membrana divisoria primitiva delle cellule. Atti Accad. gioenia Sc. nat. Serie V. Vol. III. Catania.
12. —— Apparato reticolare o condrioma? Condriocinesi o dittocinesi? Anat. Anz. Bd. XLIII. p. 422. Jena 1913.
13. D'AGATA, G. Sulla genesi del grasso e sulle modificazioni dell'apparato mitocondriale nella intossicazione difterica. Intern. Monatsschr. Bd. XXIX. S. 443. Leipzig 1913.
14. DUBREUIL, G. Les mitochondries des cellules adipeuses. Comptes rendus Soc. Biol. T. LXX. p. 48. Paris 1911.
15. —— Le chondriome des cellules cartilagineuses chez les mammifères et chez l'homme. Comptes rendus Soc. biol. T. LXX. p. 791. Paris 1911.
16. —— Le chondriome et le dispositif de l'activité sécrétoire aux différents stades du développement des éléments cellulaires de la lignée connective, descendants du lymphocyte. Arch. d'Anat. microsc. T. XV. p. 53. Paris 1913.
17. DUESBERG, J. Über Chondriosomen und ihre Verwendung zu Myofibrillen usw. Verhandl. Anat. Gesell. XXIII. Versamml. S. 123. Jena 1909.
18. FLEMMING, N. Zellsubstanz, Kern und Zellteilung. Leipzig 1882.

19. Heidenhain, M. Über die Centralkapseln und Pseudochromosomen in den Samenzellen von Proteus usw. Anat. Anz. Bd. XVIII. S. 513. Jena 1900.
20. Hoven, H. Du rôle du chondriome dans l'élaboration des grains de sécrétion dans la glande mammaire. Anat. Anzeiger. Bd. XXXIX. S. 321. Jena 1911.
21. —— Contribution à l'étude du fonctionnement des cellules glandulaires. Du rôle du chondriome dans la sécrétion. Arch. f. Zellforsch. Bd. VIII. S. 555. Leipzig 1912.
22. Laguesse, E. Les chondriocontes de la cellule cartilagineuse et la structure du protoplasme. Bibl. Anat. T. XXI. p. 296. Paris 1911.
23. Levi, G. Sulla presunta partecipazione dei condriosomi alla differenziazione cellulare. Arch. ital. di Anat. e di Embr. Vol. X. p. 168. Firenze 1911.
24. Loewenthal, N. Zur Kenntnis der Knorpelzellen. Anat. Anzeiger. Bd. XXX. S. 19. Jena 1907.
25. Mislawsky, N. Über das Chondriom der Pancreaszellen. Arch. f. mikr. Anat. und Entwickl. Bd. LXXXI. S. 394. Bonn 1913.
26. Meves, Fr. Die Spermatocytenteilungen bei der Honigbiene (Apis mellifica L.) nebst Bemerkungen über Chromatinreduktion. Arch. f. mikr. Anat. und Entwickl. Bd. LXX. S. 414. Bonn 1907.
27. —— Die Chondriokonten in ihrem Verhältnis zur Filarmasse Flemmings. Anat. Anzeiger. Bd. XXXI. S. 561. Jena 1907.
28. —— Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen. Cytologische Studien am Hühnerembryo. Arch. f. mikr. Anat. und Entwickl. Bd. LXXII. S. 816. Bonn 1908.
29. —— Die Zellen des embryonalen Stützgewebes usw. Arch. f. mikr. Anat. und Entwickl. Bd. LXXV. S. 149. Bonn 1910.
30. —— Zur Einigung zwischen Faden- und Granulalehre des Protoplasma usw. Arch. f. mikr. Anat. und Entwickl. Bd. LXXV. S. 642. Bonn 1910.
31. Nicolas, J., Regaud, Cl. et Favre, M. Sur les mitochondries des glandes sebacées de l'homme et sur la signification générale de ces organites du protoplasma. Comptes rendus Assoc. d. Anat. XIV. réun. p. 201. Paris 1912.
32. Pensa, A. Osservazioni sulla struttura delle cellule cartilaginee. Boll. Soc. med.-chir. di Pavia 1901.
33. —— Observations sur la structure des cellules cartilagineuses. Comptes rendus de l'Assoc. d. Anat. III. session. p. 185. Paris 1901.
34. Perroncito, A. Contributo allo studio delle biologia cellulare. Mitocondri, cromidii e apparato reticolare interno nelle cellule spermatiche. Memorie della Reale Accad. dei Lincei. Anno CCCVII. 1910.
35. Prenant, A. Les mitochondries et l'ergastoplasme. Journal de l'Anat. et de la Physiol. Année XLVI. p. 217. Paris 1910.
36. Renaut, J. Les grains et les vésicules de ségrégation intra-protoplasmiques des cellules du cartilage hyalin. Comptes rendus Assoc. des Anatomistes. VI. réunion. p. 67. 1904.
37. —— Mitochondries des cellules globuleuses du cartilage hyalin des mammifères. Comptes rendus de l'Acad. d. Sciences. Vol. CLI. 1911.
38. Renaut, J. et Dubreuil, G. Note sur la préossification dans la croûte périchondrale et la ligne d'ossification du cartilage. Comptes rendus Assoc. Anat. X. réunion. p. 55. Paris 1908.

39. Retterer, Ed. Evolution du cartilage transitoire. Journ. de l'Anat. et de la Physiol. XXXVI. année. p. 467. Paris 1900.
40. —— De la structure réticulée de la cellule cartilagineuse. Comptes rendus soc. Biol. LIX. année. T. II. p. 782. Paris 1907.
41. Samissonow, N. Über die Beziehungen der Filarmasse Flemmings zu den Fäden und Körnern Altmanns nach Beobachtungen an Knorpel-, Bindegewebe- und Epidermiszellen. Arch. f. mikr. Anat. und Entwickl. Bd. LXXV. S. 635. Bonn 1910.
42. Smirnow, A. E. Über die Mitochondrien und den Golgischen Bildungen analoge Strukturen in einigen Zellen von Hyacinthus orientalis. Anat. Hefte. Bd. XXXII. S. 143. Wiesbaden 1907.
43. Weber, A. Le chondriome des leucocytes polynucléaires du sang du Gongyle. Bibl. Anat. T. XXIII. p. 96. Paris 1913.

Spiegazione delle tavole.

Tavola XXVII.

Fig. 1, 2. Cellule della cartilagine costale di gatto di 3 mesi. Obb. 1/15 imm. omog. Koristka, oc. 8 comp. tubo a 160 mm.

Fig. 3. Cellule di cartilagine costale di gatto di 10 giorni. Obb. 1/15 imm. omog., oc. 6 comp. Koristka, tubo a 160 mm.

Fig. 4. Cellule di cartilagine costale di gatto neonato. Obb. 1/15 imm. omog., oc. 6 comp. Koristka, tubo a 160 mm.

Fig. 5, 6, 7. Cellule di cartilagine costale di cavia adulta (i grossi granuli colorati in grigio sono gocciole di grasso). Obb. 1/15 imm. omog. oc. 6 comp. Koristka, tubo a 160 mm.

Fig. 8. Cellule di cartilagine costale di feto di bue di 6 mesi (zona periferica). Obb. 1/15 imm. omog., oc. 6 comp. Koristka, tubo a 160 mm.

Fig. 9, 10. Cellule di cartilagine costale di feto di bue di 6 mesi (zona centrale). Obb. 1/15 imm. omog. Koristka, tubo a 160 mm.

Fig. 11. Cellule di dischi vertebrali di embrione di porco di 11 cm. di lunghezza. Obb. 1/15 imm. omog., oc. 6 comp. Koristka, tubo a 160 mm.

Fig. 12, 13. Cellule di cartilagine costale di cavia di 15 giorni (condrioma e reticolo di Bergen). Obb. 1/15 imm. omog., oc. 6 comp. Koristka, tubo a 160 mm.

Fig. 14, 15. Cellule di cartilagine costale di cavia di 15 giorni (condrioma e lipoidi). Obb. 1/15 mm. omog., oc. 6 comp. Koristka, tubo a 160 mm.

Fig. 16, 17, 18. Cellule di cartilagine tiroidea di cavia di 10 giorni (condrioma e centrosfera). Obb. 1/15 mm. omog. oc. 6 comp. Koristka, tubo a 160 mm.

Fig. 19, 20. Cellule globose del processo di ossificazione di disco vertebrale di embrione di porco di 11 cm. di lungh. Obb. 1/15 imm. omog. oc. 6 comp., Koristka, tubo a 160 mm.

Fig. 21. Cellule discoidali e cellule globose del processo di ossificazione di disco vertebrale di embrione di cavia di 9 cm di lungh. Obb. 1/15 imm. omog., oc. 6 comp. tubo a 160 mm.

Fig. 22, 23. Cellule di cartilagine tiroidea di cavia di 10 giorni (reticolo di Bergen e centrosfera). Obb. 1/15 imm. omog., oc. 6 comp. Koristka, tubo a 160 mm.

Fig. 24, 25. Cellule di cartilagine costale di gatto di 10 giorni (reticolo di Bergen). Obb. 1/15 imm. omog., oc. 6 comp. Koristka, tubo a 160 mm.

Fig. 26. Cellula globosa del processo di ossificazione di cartilagine costale di gatto di 10 giorni (reticolo di Bergen). Obb. 1/15 imm. omog., oc. 6 comp. Koristka, tubo a 160 mm.

Fig. 27, 28, 29. Cellule di cartilagine costale di cavia di 15 giorni (reticolo di Bergen). Obb. 1/15 imm. omog., oc. 6 comp. Koristka, tubo a 160 mm.

Fig. 30. Cellula di cartilagine tiroidea di cavia di 15 giorni (reticolo di Bergen.) Obb. 1/15 imm. omog. oc. 6 comp. Koristka, tubo a 160 mm.

Fig. 31, 32, 33. Cellule di cartilagine costale di feto di bue di 6 mesi (reticolo di Bergen). Obb. 1/15 imm. omog., oc. 6 comp. Koristka, tubo a 160 mm.

Tavola XXVIII.

Fig. 1. Cellule globose del processo di ossificazione di cartilagine costale di embrione di cavia di 9 cm. di lungh. Obb. 1/15 imm. omog., oc. 8 comp., tubo a 160 mm.

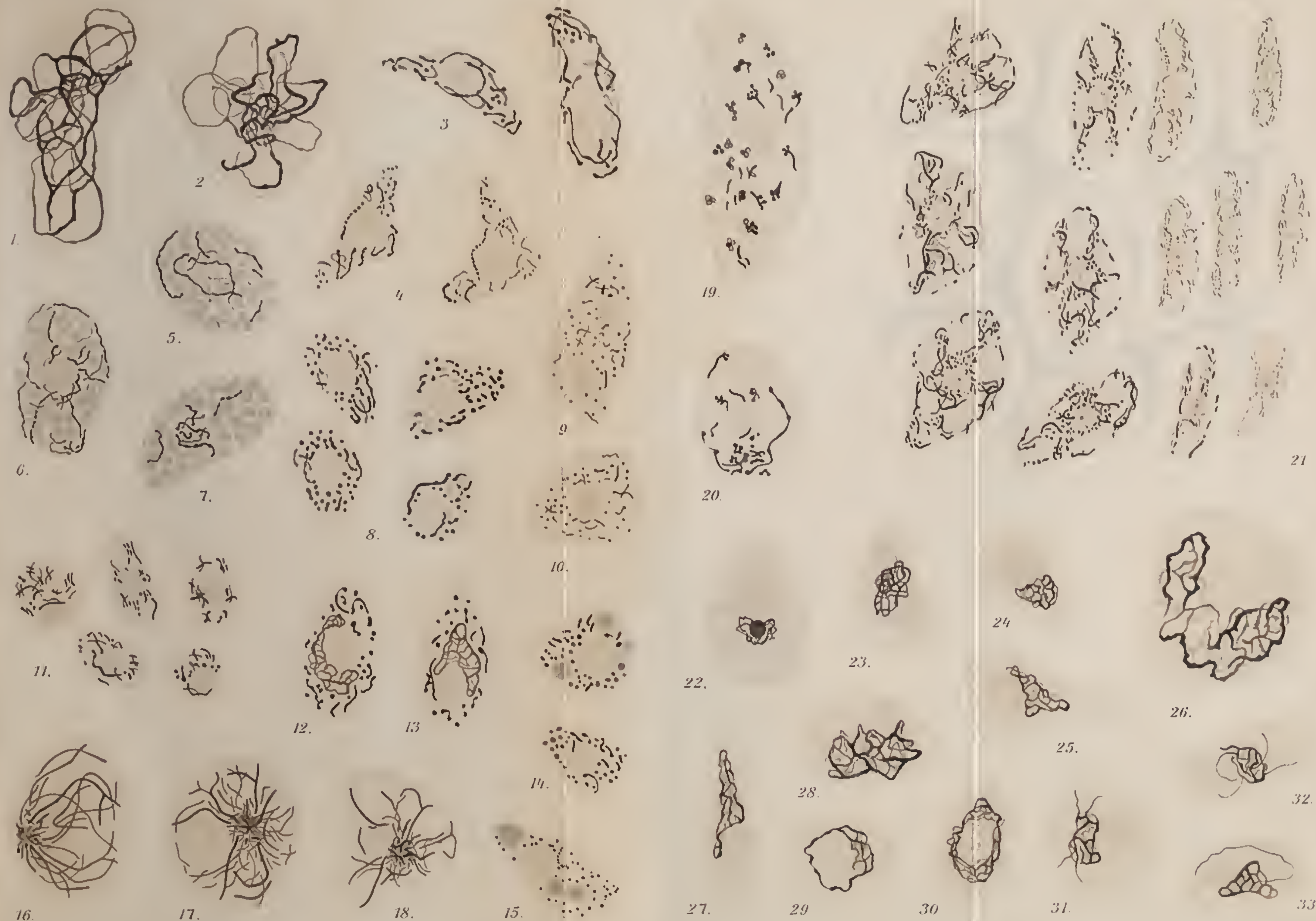
Fig. 2, 3. Cellule di cartilagine costale di cavia di un mese. Obb. 1/15 imm. omog., oc. 8 comp., tubo 160 mm.

Fig. 4, 5, 6, 7. Cellule di cartilagine costale di embrione di porco di 11 cm. di lungh. Obb. 1/15 imm. omog., oc. 8 comp., tubo a 200 mm.

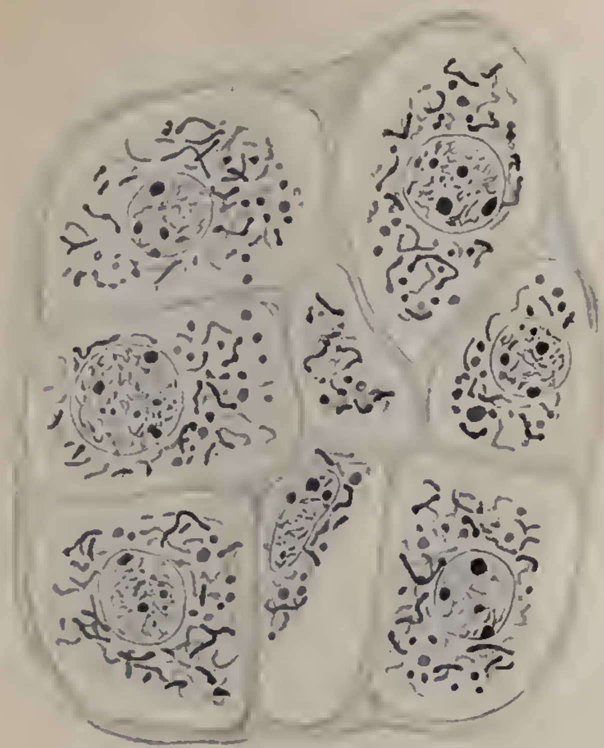
Fig. da 8 a 15. Cellule di cartilagine costale di embrione di porco di 11 cm. di lungh. durante la mitosi. Obb. 1/15 imm. omog., oc. 8 comp., tubo a 200 mm.

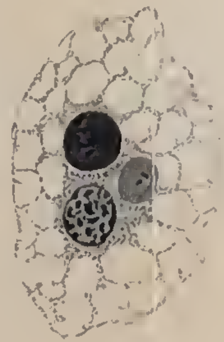
Nella tavola XXVII le figure 16, 17, 18 furono ritratte da preparati eseguiti col metodo di Cajal al nitrato d'uranio e tutte le altre da preparati eseguiti col metodo Golgi-Veratti al cromato d'argento. Nella tavola XXVIII le figure 2 e 3 furono ritratte da preparati ottenuti con fissazione in Sublimato acetico e colorazione con ematossilina ferrica, le altre figure da preparati eseguiti col metodo di Meves.

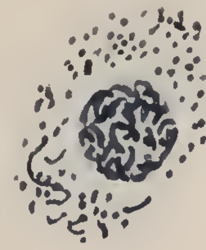




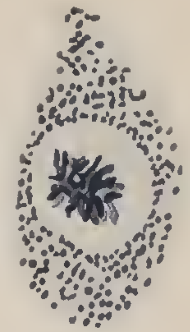
Pensa del. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena


1.

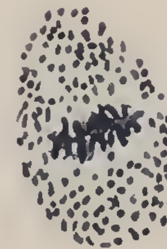

2.

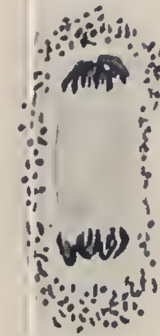

8

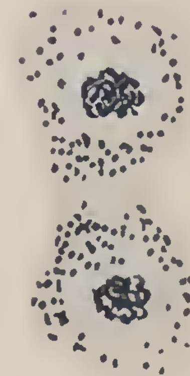

9


10.


3.


11.

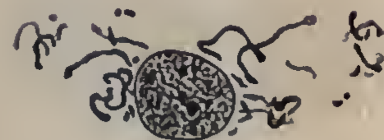

12


13.


4.


5.


6.


7


14.


15

Pensa del. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena

Lo sviluppo dei plastosomi negli anfibi.

Per

Emerico Luna,

Aiuto e Professore incaricato di Istologia generale.

(Dall' Istituto di Anatomia umana normale della R. Università di Palermo, diretto dal Prof. R. Versari.)

Con Tavole XXIX—XXX.

Uno dei problemi sui quali attualmente è rivolta in modo speciale l'attenzione dei biologi è quello riguardante il significato dei plastosomi (mitocondri, condriomiti, condrioconti, condriosomi) nella biologia cellulare[1]); molte quistioni si connettono a questo argomento ed attendono ancora una soluzione definitiva, ed altre ne sorgono ogni giorno per l'attività di vecchi e nuovi ricercatori. E poichè ogni nuovo quesito è generalmente collegato a nuovi fatti messi in evidenza, si comprende facilmente quale e quanta ricchezza di materiale si sia apprestato da molti autori per la soluzione dell' importantissimo problema biologico.

Io non riferirò la bibliografia sull'argomento, tanto più che recentemente Duesberg in una rivista sintetica ha riassunto tutti i lavori che si sono pubblicati sui plastosomi e le varie ipotesi sul loro significato. Mi limiterò solamente ad accennare alcune delle più importanti quistioni riguardanti il complesso problema.

La maggior parte degli istologi che in questi ultimi anni hanno studiato i plastosomi, ritiene che questi organuli cellulari siano destinati alla trasmissione dei caratteri ereditarì (Benda, Meves, Duesberg), e

[1]) Meves ha proposto recentemente per le formazioni mitocondriali in genere la denominazione di plastosomi (plastocondri, plastocondriomiti o, più brevemente, condriomiti, e plastoconti) la quale è basata sull'ipotesi messa avanti da questo A. sul significato funzionale che essi avrebbero nel corso della istogenesi. Per ragioni che saranno esposte in seguito sembra a me, come anche a Duesberg, che tale nomenclatura sia la più esatta, sicchè sarà adottata nel corso di questa mia nota.

che negli elementi in via di differenziazione essi prendano parte attiva e diretta nella formazione di quelle strutture che sono proprie di ogni elemento cellulare più o meno modificato (Meves, Duesberg).

Non tutti gli istologi hanno però accettato questa ipotesi, ed anzi alcuni hanno negato ai cosidetti plastosomi ogni importanza nella biologia cellulare. Gurwitsch ritiene che la teoria mitocondriale, così come essa è fondata sulle ricerche di van der Stricht sulle uova, e di Meves sulle cellule vegetali e sulle cellule embrionali, e l'idea di questo Autore sulla funzione dei plastosomi nella differenziazione dei tessuti, sia un assurdo che riposa su semplici analogie di forma. Vejdovsky vede nei plastosomi, come anche nei pseudocromosomi, nell'apparato reticolare interno etc. un semplice prodotto di differenziazione del citoplasma: questo A. ha osservato le uova di alcuni vermi ed è venuto alla conclusione che le formazioni anzidette derivano da trasformazione regressiva del centroplasma come prodotto dell'attività fermentativa dei centrioli. Hertwig e Goldschmidt ritengono che i plastosomi (da loro indicati col nome di cromidi), siano produzioni nucleari che in un determinato periodo dell'attività cellulare passano nel citoplasma: essi quindi non sono elementi costanti, non formano parte integrante della struttura del citoplasma, ma si trovano in quest'ultimo in un determinato momento della vita cellulare. Anche per i sostenitori delle teoria cromidiale i plastosomi hanno una funzione importante nella differenziazione dei tessuti (Goldschmidt). Levi, che pure è uno dei più forti sostenitori della teoria mitocondriale, nega la partecipazione dei condriosomi alla differenziazione cellulare. «Certamente la continuità dei condriosomi durante quel periodo dell'ontogenesi che fu definito da Roux come periodo dell'abbozzo degli organi, si può ritenere come dimostrata, per merito delle bellissime ricerche di Meves (1908) sull'embrione di pollo; non mi sembra invece che gli argomenti addotti fino ad oggi da Meves, Duesberg e da qualche altro in appoggio della seconda parte di questa ipotesi, cioè della trasformazione diretta dei condriosomi nei prodotti di differenziazione cellulare possano essere ritenuti come scevri di ogni critica».

Mi sono interessato anch'io[1]) dell'argomento ed ho potuto convincermi che i plastosomi pigliano parte attiva e diretta nella formazione

---

[1]) E. Luna, L'app. mitocondriale nelle cellule dell'epitelio pigmentato della retina. Arch. di anat patol. e Sc. affini. 1911.

Id., L'app. mitocondriale nelle cellule dell'epitelio pigmentato della retina. Arch. f. Zellforsch. Bd. IX. Hft. 1. 1912.

Id., Sulla importanza dei condriosomi nella genesi delle miofibrille. Arch. f. Zellforsch. Bd. IX. Hft. 3. 1913.

di alcune strutture cellulari (miofibrille e pigmento retinico). Nel corso delle mie ricerche sull'epitelio pigmentato della retina ho poi notato una particolarità, già da me in una delle note precedenti riferita, e che qui espongo in modo succinto e con le stesse riserve fatte precedentemente. Nell'embrione di pollo i plastosomi dell'epitelio pigmentato sono dapprima molto abbondanti, ma in seguito si riducono sempre più di numero (embrione di 120 ore) fino a che scompaiono del tutto (8° giorno di incubazione). Dall' 8° al 16° giorno di incubazione le cellule si presentano cariche di fuscina, ma prive di plastosomi. Al 17° giorno riappare il condrioma in forma di granuli prima e poi di brevi bastoncini ed anelli. Negli elementi da me esaminati quindi si può avere una produzione tardiva, autoctona dei plastosomi. Il fatto non è stato sino ad ora notato, anzi si è esclusa una neoformazione autoctona di plastosomi. Come dicevo nella nota preventiva «io son persuaso della gravità della mia affermazione, la quale è in contraddizione con il principio fondamentale che ha fino ad ora regolato tutte le nostre conoscenze sulla biologia dei condriosomi, e che è riassunto nell'aforisma di Duesberg 'omne mitocondrium e mitocondrio', ma d'altro lato i reperti da me ottenuti, per quanto sottoposti ad una critica rigorosa, non mi permettono di venire ad una conclusione diversa»: e però, nella nota anzidetta mi limitavo ad enunciare con una certa riserva i particolari notati e cioè che «in un elemento cellulare privo di condriosomi si può avere la formazione ex novo di un apparato mitocondriale».

Le notizie bibliografiche soprariferite, per quanto brevi, sono già sufficienti per darci un'idea delle numerose quistioni che si collegano al problema dei plastosomi.

Nelle ricerche, che formano l'oggetto della presente nota, mi son proposto di studiare il modo di comportarsi dei plastosomi nello sviluppo degli anfibi. Le nostre conoscenze sullo sviluppo dei plastosomi riguardano di fatti prevalentemente i mammiferi e gli uccelli, e ricerche sistematiche sono state in proposito fatte da Meves, Duesberg, Levi, Rubashkin etc., mentre per quanto riguarda lo sviluppo degli anfibi si hanno solamente brevi e frammentarie nozioni: ricordo le ricerche di Benda e di Duesberg nel tritone, e quelle più recenti di Levi.

L'abbondanza e la chiarezza dei preparti ottenuti mi hanno poi incoraggiato a trattare anche alcune delle quistioni principali riguardanti il significato biologico dei plastosomi.

E. Luna, Nuove ricerche sulla biologia del condrioma (Condriosomi e pigmento retinico). Anat. Anz. Bd. LXIII. 1913.

Id., Ricerche sulla biologia dei condriosomi. Arch. f. Zellforsch. 1913.

Materiale e metodo di ricerca.

Come materiale di studio mi son servito delle uova e delle larve di *Bufo vulgaris*, trattate con metodi diversi, ma prevalentemente col metodo Regaud: in alcuni casi ho trattato le larve di *Bufo* col metodo consigliato da Rubashkin, fissando nel liquido di Maximow, senza però ottenere buoni risultati. In qualche caso mi son servito del metodo Benda onde ottenere dei preparati di controllo. Il metodo che mi ha dato i migliori risultati è quello del Regaud: dovendo fissare pezzi non molto piccoli io uso aggiungere al liquido fissatore qualche goccia di acido acetico [1]), secondo questa formula:

Bicromato di potassa al 3%	cc.	20
Formalina	cc.	4
Acido acetico	gocce	1—2

Uova, piccole larve e segmenti di grosse larve venivano immerse per 3 giorni in tale liquido fissatore, avendo cura di cambiare il liquido al 2° giorno. Indi cromizzavo per 10 giorni in una soluzione di bicromato potassico al 3%, rinnovando ogni tre giorni il liquido. Successivamente lavaggio per 24 ore in acqua corrente ed inclusione in paraffina. Le sezioni, di μ 4—5, erano incollate col metodo Henneguy: indi, dopo i comuni passaggi, si mordenzavano per 24 ore in una soluzione di allume di ferro al 4%, tenuta ad una temperatura di circa 35°: in seguito breve lavaggio in acqua distillata, e colorazione per 24 ore in una soluzione di ematossilina, formata al momento da una parte di ematossilina alcoolica matura al 10% e da nove parti di acqua distillata. Indi breve lavaggio in acqua di fonte e differenziazione in allume di ferro all'1%; acqua di fonte per 30′, serie ascendente degli alcool, xilolo, balsamo.

Nello studio dello sviluppo dei plastosomi in *Bufo* ho dovuto superare una grave difficoltà, data appunto dall'enorme quantità di pigmento contenuto nelle cellule dei varì tessuti e che disturba l'osservazione. Ho tentati tutti i metodi comuni di depigmentazione, ma essi non permettono l'ulteriore colorazione dei plastosomi. Son riuscito finalmente ad avere ottimi risultati depigmentando i pezzi in toto col metodo Alfieri

[1]) Recentemente Bertrand ha comunicato un nuovo metodo per la ricerca dei plastosomi (Un nouveau procédé pour la recherche des mitochondries, Bibliographie Anatomique, tome XXIII, 1913). Più che di un nuova metodo, si tratta di una modificazione del metodo Regaud, consistente nell' aggiunta di alcune gocce di acido acetico al liquido fissatore. L'A. evidentemente non è a conoscenza dei miei lavori precedenti, e quindi non sa che già prima di lui ho modificato la formola del liquido Regaud, aggiungendoci alcune gocce di acido acetico.

opportunamente modificato. Piccoli segmenti di larve, larve intere ed uova, già trattati col metodo soprariferito, vengono immersi dopo la cromizzazione ed il successivo lavaggio in acqua, in una soluzione di permanganato di potassio al 2 %. Dopo 4—6 ore vengono immersi in una soluzione di acido ossalico al $^1/_3$%, e qui si mantengono da 15′ a 30′. Tali passaggi sono fatti alternativamente per 24 ore, avendo cura di cambiare ogni volta i liquidi; in seguito i pezzi, depigmentati, si lavano in acqua e si includono.

Questo metodo, oltre a dare una completa depigmentazione, ha il vantaggio di rendere molto più elettiva la colorazione dei plastosomi, sicchè spesso mi è occorso, specialmente in larve molto piccole, di avere con esso una eccellente colorazione dei plastosomi, mentre in larve dello stesso stadio, trattate col Regaud, non ottenevo se non una pallida ed incerta colorazione di plastosomi.

Quanto al dubbio che venisse colorato con l'ematossilina lo stroma dei granuli pigmentati (qualora esso esistesse), aggiungerò a quanto ho detto nella nota precedente[1]) che anche le ricerche sull'oocite, oltre a quelle sull' ectoderma, mi hanno portato alla conclusione che con il metodo soprariferito non si colorano affatto, negli elementi cellulari delle larve di anfibi, i granuli depigmentati.

Ricerche personali.

Esporrò dapprima quanto è stato da me osservato nell'oocite, nelle prime cellule di segmentazione e nel primo abbozzo dei foglietti germinativi: successivamente studierò l'evoluzione dei plastosomi in alcuni tessuti ed in alcuni organi.

Nell'ovario di *Bufo* sacrificato nei mesi di Gennaio-Marzo, si riscontrano oogoni ed oociti più o meno sviluppati. Mi limito qui a riferire le particolarità che si riscontrano nel cosidetto periodo di accrescimento dell'oocite, perchè è mio intendimento ampliare queste ricerche, esaminando dettagliatamente le modificazioni del vitello nelle varie fasi dello sviluppo dell'ovo di *Bufo*.

Nell'oocite poco sviluppato, nel quale il pigmento non ha ancora fatto la sua apparizione, si nota in corrispondenza dell' endoplasma (fig. 1) la presenza di masse cromatiche più o meno sviluppate ed in numero variabile. Talora si tratta di blocchi isolati i quali inviano delle propaggini nel vitello circostante; ma più generalmente si hanno numerosi blocchi, i quali si dispongono attorno alla vescicola germinativa in modo da for-

[1]) E. Luna, Sulla importanza dei condriosomi nella genesi delle miofibrille. Arch. f. Zellforsch. Bd. IX. Hft. 3. 1913.

mare concentricamente ad essa un anello, che è più o meno completo, a seconda che le masse colorate con l'ematossilina sono fra di loro in relazione oppure sono indipendenti l'una dall'altra.

Esaminando a forte ingrandimento una di tali masse (fig. 2) si riconosce che essa risulta dall'addensarsi in una zona del vitello di una grande quantità di fini granuli e di filamenti i quali, strettamente avvicinati nella zona più centrale, si diradano man mano che si portano nelle zone periferiche: qui essi appaiono come granuli isolati, come catenelle formate da serie di granuli e come filamenti.

Le stesse particolarità si riconoscono in corrispondenza dei tralci unitivi, i quali risultano anch'essi formati da granuli e filamenti. insieme confusi nella parte più centrale, meglio riconoscibili perchè più rari verso la periferia.

La disposizione e la struttura sopraricordate sono tali da ricordarci i cosidetti boyaux e amas vitellogenèses risultanti dalla disgregazione della zona vitellogena desciritta da van der Stricht e dalla sua scuola, e quindi non esito ad affermare che i blocchi ad anello più o meno completo da me riscontrati concentricamente alla vescicola germinativa nell' oocite di *Bufo* corrispondono appunto a tali formazioni, e che i granuli, le serie di granuli ed i filamenti che li costituiscono sono appunto formazioni plastosomiali (plastocondri, condriomiti, plastoconti).

In questo stadio si nota in corrispondenza della zona più esterna dell'oocite una grande quantità di gocciole di deutoplasma, delle quali alcune sono più grosse, altre più piccole: tra le une e le altre si hanno tutti i gradi di passaggio. Le gocciole più piccole si trovano sempre nella zona più esterna dell'ectoplasma. In mezzo ad esse si ha una grande quantità di granuli che si colorano intensamente con l'ematossilina: tra questi granuli e le piccole gocce di vitello si hanno tutti i gradi di passaggio, sicchè riesce facile pensare che le ultime derivino dai primi. Procedendo verso l'endoplasma le gocciole di vitello si fanno sempre più grosse (fig. 1 e 2).

Nell'oocite un po' più avanzato di sviluppo (fig. 3) si nota la disgregazione degli ammassi vitellogeni, i quali si risolvono in una grande quantità di granuli isolati o disposti a catenelle (condriomiti) e di filamenti più o meno lunghi (plastoconti). Questi sono disseminati per tutto il vitello, ma sono più abbondanti nella zona endoplasmatica: nell'ectoplasma, ove si hanno grandi quantità di gocce di vitello, sono rari e generalmente rappresentati da granuli.

Restano quà e là ancora tracce dei primitivi ammassi vitellogeni, ed uno di essi è fedelmente riprodotto nella fig. 3. Le gocce di vitello

nutritivo sono aumentate di numero e di volume: si nota però sempre la disposizione ricordata nello stadio precedente, e cioè nella zona più periferica si hanno granuli e piccole gocce, mentre procedendo verso l'endoplasma le gocce aumentano sempre più di volume.

Nell' oocite ancora più avanzato nello sviluppo si nota nell'endoplasma l'apparizione di granuli di pigmento: i plastosomi sono più scarsi ed appaiono come granuli isolati e come catenelle di granuli. I granuli di pigmento sono dapprima molto pallidi, ed in seguito assumono la tinta che è loro caratteristica. Nella fig. 4, che riproduce uno stadio ancora più avanzato dello sviluppo, si nota che il pigmento ha già invaso tutta la zona endoplasmatica ed in mezzo ad esso si notano ancora plastosomi in forma di granuli isolati e di catenelle di granuli. Nell'oocite dello stesso stadio di sviluppo di quello riprodotto nella fig. 4 si nota ancora nell'endoplasma, tra la zona delle gocciole di vitello e la vescicola germinativa, e precisamente in vicinanza dei plastosomi, la presenza di granuli fortemente colorati dall' ematossilina, riuniti in mucchi più o meno voluminosi. Alcuni di questi granuli sono piccoli come i plastosomi vicini, altri sono più grossi ed hanno tutti i caratteri delle gocciole di vitello: tra gli uni e gli altri si hanno tutti gli stadi di passaggio.

Esaminando l'oocite giunto alla fine del periodo di accrescimento, si nota che il deutoplasma occupa quasi tutta l'estensione della cellula, e rispetta solo un breve spazio centrale nel quale è situato anche il nucleo. Tra le gocciole di vitello e specialmente alla periferia dell'oocite si nota una grande quantità di granuli di pigmento. Nel protoplasma perinucleare si hanno abbondanti granellini che si colorono intensamente con l'ematossilina e che hanno tutti i caratteri dei plastosomi studiati negli stadi precedenti.

È difficile, data la grande quantità di vitello e di pigmento, poter seguire le modificazioni alle quali l'oocite va incontro nel periodo successivo a quello di accrescimento e nel processo di fecondazione. Non è certo l'ovo di *Bufo* il materiale che si presta per queste ultime ricerche, le quali del resto in altri animali sono state ampiamente fatte, e con risultati concordi, da numerosi osservatori.

Mi è stato possibile invece seguire il modo di comportarsi dei plastosomi nelle prime cellule risultanti dalla divisione dell'ovulo. Una di tali cellule è riprodotta nella fig. 5 e nella fig. 6: il protoplasma è ricco di dischi di vitello i quale dalle zone più periferiche si estendono fino in prossimità del nucleo, attorno al quale lasciano uno spazio ristretto, pieno di plastocondri. In tali cellule il pigmento è molto abbondante, specialmente alla periferia, ove forma una zona compatta: procedendo dalle

parti più periferiche verso il centro della cellula il pigmento diminuisce di quantità, ma anche in mezzo ad i plastosomi perinucleari si trovano sempre granuli di pigmento. I plastosomi invece sono in grande quantità nella zona perinucleare (fig. 6), e diminuiscono di numero man mano che si procede verso la periferia: essi non si spingono mai fin nella zona piena di pigmento. Questa particolarità si vede chiaramente nelle cellule depigmentate: in questo caso la zona più periferica appare come un orletto chiaro, mentre nella zona perinucleare i plastocondri sono in grande quantità (fig. 6).

Questo fatto, oltre a dimostrare che la zona più periferica delle cellule risultanti dalle prime segmentazione dell'uovo è priva di plastosomi, dimostra anche che i granuli di pigmento che si trovano in così grande quantità nelle cellule delle larve di *Bufo* non contengono uno stroma che possa venire, nei preparati depigmentati, ulteriormente colorato dall'ematossilina. Il significato quindi di tale pigmento deve essere diverso da quello di altri pigmenti, come il pigmento coroideo (Busacca), nei quali esiste uno stroma di natura plastosomiale.

Quando i tre foglietti germinativi si sono ben differenziati, si riscontra negli elementi cellulari una grande quantità di plastosomi, la cui osservazione è però resa difficile dalla grande quantità di pigmento e di dischi di vitello. È appunto in questi casi che il metodo della depigmentazione e successiva colorazione con ematossilina da me impiegato riesce utile.

Nell'ectoderma di una larva si riconoscono due strati di cellule (fig. 7): uno strato di cellule superficiali ed uno di cellule basali. Il primo consta di cellule più o meno allungate, col maggior asse nel senso verticale, ed il secondo consta di cellule appiattite. Le cellule allungate contengono una grande quantità di dischi vitellini, i quali si colorano intensamente con l'ematossilina, e sono cariche di pigmento in forma di piccoli granuli. Il pigmento è disseminato in tutta la cellula, ma si raccoglie in grande quantità specialmente nella zona sopranucleare; qui esso forma come uno strato compatto il quale distalmente si arresta a brevissima distanza dalla superficie libera della cellula, dove si ha come una zona cuticolare: tale zona nei preparati trattati col Regaud resta perfettamente chiara e solo quà e là presenta qualche granellino di pigmento. Oltre ai granuli di pigmento ed ai dischi di vitello, le cellule allungate dell'ectoderma contengono plastosomi in forma di granuli isolati o riuniti a catenelle e di filamenti più o meno tortuosi. Essi sono distribuiti per tutta la superficie cellulare, però mentre sono molto scarsi nella zona sottonucleare, sono invece abbondanti attorno al nucleo e specialmente nella zona sopranucleare. È appunto in quest'ultimo tratto che essi

raggiungono il maggiore sviluppo, e si vede che sono rappresentati da granuli, serie di granuli e filamenti: questi ultimi mancano o sono molto scarsi nella zona sottonucleare. I plastosomi della zona distale sono situati in mezzo ai granuli di pigmento: però, non si spingono mai così distalmente come i granuli di pigmento. Questo particolare si vede bene nella fig. 7, la quale riproduce, oltre alle cellule basali, tre cellule allungate dell'ectoderma: la cellula di sinistra non è depigmentata, quella di destra è colorata con ematossilina dopo di essere stata depigmentata. In quest'ultima si vede che i plastosomi non si spingono mai così distalmente come i granuli di pigmento.

Alcune delle cellule superficiali dell'ectoderma differiscono dalle altre per alcune particolarità di struttura che brevemente riassumo. Esse sono più voluminose, presentano una maggiore quantità di vitello, di plastosomi ed alle volte anche di pigmento: di più esse sono fornite di brevi ciglia (fig. 7). Il pigmento ed i plastosomi sono più abbondanti nella zona distale della cellula: gli ultimi si spingono fin nella zona libera ciliata. Alla base di ciascun ciglio si ha un granulo, colorato con l'ematossilina, probabilmente anch'esso di natura plastosomiale.

Le cellule appiattite dello strato basale contengono dischi di vitello in scarsa quantità, granuli di pigmento e plastosomi in forma di granuli, di catenelle di granuli e di filamenti.

Le cellule mesodermiche si presentano di forma e grandezza varia: generalmente sono grossi elementi cellulari di forma poligonale con numerosi prolungamenti (fig. 9), ma si riscontrano anche cellule rotondeggianti. Il protoplasma è ricco di dischi di vitello e di granuli di pigmento i quali non si trovano semplicemente nel corpo cellulare, ma si estendono fin nelle più esili diramazioni dei prolungamenti. E finalmente tra granuli di pigmento e dischi di vitello si trovano molti plastosomi; la loro dimostrazione è poco evidente nelle cellule non depigmentate, invece nei preparati depigmentati (fig. 9) i plastosomi si riconoscono chiaramente in forma di granuli isolati o di serie di granuli: non mi è stato mai possibile riconoscere, almeno in questi stadi, la presenza di plastoconti nelle cellule mesodermiche. I plastosomi, come i granuli di pigmento, si estendono fin nelle più piccole ramificazioni della cellula.

È assolutamente da escludere che i granuli, da me interpretati come plastosomi, rappresentino lo stroma del pigmento, colorato ulteriormente dall'ematossilina, perchè, essi sono visibili, per quanto poco chiaramente, accanto ai granuli di pigmento nelle cellule non sottoposte a processo di depigmentazione.

Per quanto riguarda le cellule del foglietto endodermico, l'osserva-

zione è qui resa molto difficile dalla grande quantità di dischi di vitello: ad ogni modo è facile riconoscere come anche qui i plastosomi siano rappresentati da granuli isolati e da granuli disposti a catenelle. Fra i plastosomi ed il vitello si trovano abbondanti granuli di pigmento.

Studiato così il modo di comportarsi dei plastosomi nelle cellule risultanti dalle prime segmentazioni dell'uovo ed in quelle dei foglietti blastodermici, esamineremo ora il loro sviluppo in alcuni organi ed in alcuni tessuti. Incominceremo con l'esame del **pronefro** e del **mesonefro.**

Già in una larva di *Bufo* lunga mm. 5 sono ben evidenti i canalicoli del pronefro: le cellule che li tappezzano sono cubiche e contengono alla base una grande quantità di vitello in forma di dischi più o meno grossi. Oltre al vitello si nota in tali cellule la presenza di granuli di pigmento in quantità variabile e distribuiti nel corpo cellulare senza alcun ordine: di più le cellule contengono plastosomi. Il modo di comportarsi di questi ultimi varia a seconda che vengano presi in esame le cellule di canalicoli appena abbozzati o le cellule di canalicoli più adulti. Nelle prime (fig. 10) i plastosomi sono situati più specialmente nella parte distale della cellula, ove formano un ammasso granulare più o meno vistoso, che dal contorno superiore del nucleo si spinge fin verso la superficie libera della cellula: talvolta esso è esteso in larghezza e non è addossato alla membrana nucleare: talora invece è molto ristretto ed abbraccia come una mezzaluna il nucleo.

Gli elementi che lo costituiscono sono granulari, però non è infrequente riconoscere, specialmente nelle parti più laterali, anche delle forme bacillari. Da un lato e dall'altro del nucleo e nella zona basale della cellula si hanno plastosomi in numero molto limitato e rappresentati da granuli e da bastoncini.

Nei canalicoli più avanzati nello sviluppo le cellule (fig. 11) si presentano di forma cubica, i dischi di vitello ed il pigmento sono più scarsi, i plastosomi sono distribuiti uniformemente per tutto il corpo cellulare: essi sono rappresentati generalmente da granuli isolati o da catenelle di granuli e da bastoncini disposti secondo il maggior asse della cellula.

La fig. 12 riproduce una cellula del pronefro di una larva di mm. 5 non sottoposta a depigmentazione: in essa si vedono oltre a granuli di pigmento ed a dischi di vitello (questi ultimi situati nella zona basale), anche i plastosomi riuniti in una massa granulare nella zona distale: rari plastosomi si trovano anche distribuiti nel resto del corpo cellulare. Questa cellula appartiene ad un canalicolo in via di sviluppo. In una larva lunga mm. 8 il pronefro è più avanzato nello sviluppo e le sezioni

trasverse dei canalicoli sono più numerose: le cellule che li tappezzano sono di forma cubica e presentano scarsi granuli di pigmento e scarsi dischi di vitello (fig. 13). I plastosomi hanno forma di granuli e di bastoncini: i primi sono in maggior quantità e distribuiti per tutto il corpo cellulare: i bastoncini sono più scarsi e disposti prevalentemente da un lato e dall'altro del nucleo. Essi sono di lunghezza variabile: alcuni sono brevissimi, altri molto lunghi, e tra gli uni e gli altri, come anche tra i brevi bastoncini ed i granuli, si hanno tutti i gradi di passaggio. In questo stadio non è ancora possibile riconoscere l'esistenza di una attività funzionale da parte del pronefro.

In una larva lunga mm. 10 si riscontrano nelle cellule del pronefro quelle particolarità istologiche che le caratterizzano anche negli stadi ulteriori: esse sono più basse di quelle degli stadi precedente e presentano la caratteristica struttura delle cellule a bastoncini (fig. 15), e cioè il corpo cellulare si presenta ricco di filamenti e bastoncini disposti secondo la maggiore lunghezza della cellula e paralleli tra di loro. Questi bastoncini o plastoconti possono essere di diversa lunghezza: generalmente si spingono della base della cellula fin verso la superficie libera, rispettando distalmente un tratto di protoplasma molto ristretto: alle volte però i bastoncini sono più corti, sicchè è necessario che due od anche tre bastoncini si dispongono in fila, l'uno dietro l'altro, per colmare la distanza tra la base e la superficie libera della cellula. Il loro decorso è rettilineo o leggermente flessuoso. È difficile stabilire se i bastoncini più corti siano realmente tali o se essi rappresentino segmenti di bastoncini colpiti dal taglio del rasoio: lo stesso vale per i rari granuli che s'incontrano nel corpo cellulare.

In questo stadio si riconosce facilmente il canale di Wolff: le cellule che lo tappezzano presentano una struttura a bastoncini che spesso è solo evidente nella zona prossimale o sottonucleare, mentre nella zona distale si hanno solo granuli e brevi bastoncini (fig. 14). Talvolta però in quest'ultima zona mancano i granuli ed i bastoncini. Nel corpo cellulare si hanno ancora rari granuli di pigmento e qualche disco vitellino.

In una larva lunga mm. 17 si nota, caudalmente al pronefro ed in connessione col canale di Wolff, il primo abbozzo del corpo di Wolff. Esso è rapprensentato da cordoni cellulari pieni: le cellule che costituiscono tali cordoni presentano dei plastocondri, generalmente accumulati in corrispondenza del polo nucleare volto verso la futura cavità del canalicolo, ma anche nel resto del corpo cellulare si hanno quà e là rari granuli e qualche bastoncino. Il canale di Wolff è tappezzato da cellule le quali hanno struttura identica a quella descritta nello stadio precedente.

Quanto ai canalicoli del pronefro, essi appaiono in questo stadio attivamente funzionanti e lasciano riconoscere delle particolarità di struttura sulle quali mi fermerò brevemente.

Non tutti i canalicoli si presentano con lo stesso aspetto: alcuni sono difatti tappezzati da cellule in stato di riposo, altri sono invece tappezzati da cellule ricche di granuli interpretati da tutti gli Autori come granuli di secrezione, e quindi si debbono considerare come canalicoli in stato di attività funzionale.

Allo stato di riposo le cellule conservano la struttura caratteristica delle cellule a bastoncini descritta nello stadio precedente e riprodotta nella fig. 15: ho notato spesso che in uno stesso canalicolo qualcuna delle cellule di rivestimento non è così ricca di bastoncini come tutte le altre, ma ne presenta un numero più o meno limitato, sicchè l'elemento cellulare spicca per la sua debole colorazione di fronte agli altri elementi, ai quali l'abbondanza e la compattezza dei bastoncini da una tinta più scura.

Nei canalicoli nei quali la grande quantità dei granuli di secrezione nelle cellule dimostra l'attiva funzionalità, gli elementi cellulari appaiono più alti (fig. 16) delle cellule in riposo, e si rende ben evidente alla superficie libera un orlo a spazzola: non si ha più il caratteristico aspetto delle cellule a bastoncini, ma nella zona prossimale o sottonucleare si nota la presenza di granuli, di piccoli bastoncini ed anche di qualche filamento, mentre nella zona distale si notano numerose vescicole, delle quali alcune sono intensamente colorate dall'ematossilina, altre sono invece più pallide. Le vescicole non hanno tutte le stesse dimensioni: tra le più grosse e le più piccole si hanno tutti i gradi di passaggio: inoltre in mezzo ed esse si nota la presenza di granuli minuti dai quali, per gradi, si passa alle forme vescicolari e cioè alle vescicole di secrezione.

Nei canalicoli nei quali il processo di secrezione non è così avanzato come nei canalicoli sopradescritti, le cellule presentano le seguenti particolarità (fig. 17): esse non sono molto aumentate in volume e l'orlo a spazzola è molto breve; nel protoplasma sottonucleare è spesso più o meno completamente conservata la struttura bacillare e cioè si hanno, in mezzo ai granuli, filamenti più o meno lunghi e tortuosi, disposti secondo il maggiore asse della cellula, mentre nella zona distale o sopranucleare si notano solo plastocondri e piccole vescicole di secrezione, scure o pallide.

Oltre ai canalicoli sopradescritti, se ne incontrano altri con evidenti segni di involuzione: è noto difatti che il pronefro degli anfibi è destinato a scomparire precocemente per essere sostituito dal mesonefro e che

in uno stesso stadio è spesso facile osservare elementi del pronefro in attiva funzione, elementi del pronefro in via di regressione ed elementi del mesonefro in via di sviluppo.

I canalicoli in regressione del pronefro si presentano alle volte di ampiezza molto superiore al normale ed in tal caso gli elementi cellulari che li tappezzano sono molto appiattiti: quando l'ampiezza del canale è normale, le cellule di rivestimento hanno generalmente l'altezza ordinaria. L'aspetto di tali cellule è estremamente variabile in rapporto con il grado più o meno avanzato del processo involutivo. In alcune i plastosomi sono in grande quantità e prevalentemente situati verso la base della cellula; essi hanno forma di granuli e di piccoli bastoncini (fig. 18). In altre cellule i plastosomi formano un mucchio granulare disposto da un lato del nucleo (fig. 19, 20, 22): spesso è impossibile distinguere i singoli granuli, sicchè essi, insieme riuniti, formano una massa molto compatta la quale spicca sul resto del protoplasma, completamente scolorato ed omogoneo. Il mucchio dei plastosomi, specialmente nelle cellule basse dei canalicoli ampi, avvolge talora tutto il contorno del nucleo, attorno al quale forma come una corona granulare che si perde insensibilmente nel citoplasma vicino; talora invece di un anello compatto perinucleare si hanno due mucchi disposti ad un polo ed all'altro del nucleo allungato. In alcune cellule si ha un cumulo granulare addossato ad un lato del nucleo: fra i granuli si riconoscono anche dei filamenti più o meno tortuosi (fig. 22) i quali possono anche allontanarsi dal mucchio principale e perdersi con volute più o meno ampie e irregolari nel citoplasma vicino: talvolta si ha addirittura una massa compatta di filamenti aggrovigliati, più o meno lunghi (fig. 23), ed in mezzo ad essi granuli più o meno grossi e qualche formazione ad anello.

In qualcuna delle cellule che tappezzano canalicoli in via di involuzione si riconosce ancora un orlo a spazzola molto rudimentale; in questo caso però l'alterazione dei plastosomi non è mai di grado avanzato. E finalmente nelle ultime fasi del processo involutivo il protoplasma acquista un aspetto alveolare, i plastosomi scompaiono o sono ridotti a qualche raro granulo (fig. 24); in tali casi generalmente il nucleo non si lascia colorare dall'ematossilina.

Per completare la descrizione dei canalicoli del pronefro in via di regressione, ricorderò che spesso il lume di detti canalicoli è pieno di blocchi intensamente colorati dall'ematossilina, senza alcuna struttura, e talvolta anche da elementi cellulari in via di involuzione.

Nel pronefro di una larva lunga mm. 19 si distinguono chiaramente canalicoli in riposo, canalicoli in attività secretoria e canalicoli in via di

regressione: nelle cellule che rivestono tali canalicoli si hanno le particolarità ricordate negli stadi precedenti.

Il mesonefro è già abbastanza sviluppato e funzionante: esso presenta anche numerosi glomeruli. Le cellule che tappezzano i canalicoli del mesonefro sono molto simili a quelle del pronefro, esse quindi presentano la caratteristica struttura bacillare (fig. 26). I bastoncini sono paralleli tra di loro ed hanno diversa lunghezza: alcuni si estendono dalla zona basale a quella distale, rispettando una zona corticale che dà l'impressione di una cuticola: altri invece sono più piccoli; alle volte nella zona sopranucleare si hanno granuli invece di bastoncini, così come nella cellula del canale di Wolff riprodotta nella fig. 14. Tale descrizione riguarda le cellule dei canalicoli in riposo. Nei canalicoli in attività, rivelabile dalla presenza dei granuli di secrezione, le cellule si presentano con aspetto estremamente variabile: esse sono più alte (fig. 25), i bastoncini appaiono frammentati, disposti senza alcun ordine e diminuiti di numero. Fra i bastoncini si nota inoltre la presenza di vescicole di secrezione, alcune delle quali sono colorate dalla ematossilina, altre invece sono pallide. Non raramente nelle cellule in attività il protoplasma appare ricco di vacuoli, le cui pareti sono delimitate dai plastoconti frammentati.

Questo particolare, che è spesso ben evidente anche nelle cellule del pronefro in attività, è ancora più chiaramente visibile nelle larve più avanzate nello sviluppo e nell'individuo adulto.

Oltre ai canalicoli completamente sviluppati si hanno nel mesonefro canalicoli embrionali, rappresentati da cordoni cellulari pieni, nei quali le cellule presentano la particolare disposizione dei plastosomi ricordata nello stadio precedente. Anche i glomeruli sono ricchi di plastosomi; ogni glomerulo appare formato da travate di cellule nelle quali si hanno plastosomi in forma di granuli od anche di bastoncini; le cellule della capsula contengono solo rari e piccoli granellini.

In una larva di *Bufo* lunga mm. 22 si notano i particolari ricordati nello stadio precedente. Accanto al pronefro in via di involuzione, con canalicoli ampi, tappezzati da cellule più o meno profondamente alterate, si ha il mesonefro già abbastanza sviluppato e con nuovi canalicoli sempre in via di sviluppo.

Alcuni dei canalicoli sono in stato di riposo ed allora sono tappezzati da cellule basse con le caratteristiche delle cellule a bastoncini. Altri canalicoli sono in attività secretoria e le cellule si presentano più alte, con plastosomi diminuiti di numero, bacillari, granulari e filamentosi, distribuiti senza alcun ordine. In alcune cellule (fig. 27) essi delimitano

dei vacuoli che possono contenere vescicole di secrezione scure o pallide, od essere vuoti. In nessuna cellula mi è stato possibile riconoscere un orlo a spazzola: spesso invece la superficie libera della cellula presenta una zona cuticolare priva di granuli di secreto e di plastosomi.

In una larva lunga mm. 30 il pronefro appare ancora ben sviluppato e funzionante.

Le cellule presentano una struttura che varia in rapporto con lo stato funzionale del canalicolo al quale appartengono. Ho potuto individualizzare tre tipi principali di cellule che segnano i vari stadi del processo di secrezione. Le cellule dei canalicoli a riposo sono piuttosto basse e presentano la nota disposizione regolare dei bastoncini.

Nelle cellule di canalicoli al principio del processo di secrezione (fig. 28), più alte del normale, la superficie libera presenta un orletto cuticolare: la disposizione tipica dei bastoncini è conservata solo nella zona sottonucleare o prossimale, mentre nella zona sopranucleare ed anche perinucleare si hanno solamente plastocondri: mancano le gocce di secrezione.

Quando la secrezione è già attiva (fig. 29) le cellule presentano nella porzione basale plastosomi granulari ed a forma di bastoncini brevi che conservano in qualche modo la disposizione tipica a bastoncini: al di sopra di tale zona e precisamente nella zona perinucleare si hanno plastosomi granulari: più in alto ancora si hanno plastocondri e grossi granuli che rappresentano il primo abbozzo delle vescicole di secreto. E finalmente in uno stadio più avanzato del processo secretivo (fig. 30) i plastosomi sono ridotti a pochi granuli ed a qualche frammento di bastoncino sottonucleare, mentre il resto del corpo cellulare è occupato da grosse bolle di secreto, delle quali alcune sono colorate, altre pallide.

Caudalmente al pronefro si ha il mesonefro, ben sviluppato ed anch'esso funzionante.

Negli stadi successivi dello sviluppo non è più possibile riconoscere il pronefro, mentre il mesonefro cresce sempre più in volume.

Allo scopo di studiare ancora più esattamente i rapporti tra bastoncini e grani di secrezione, ho esaminato il mesonefro di giovani bufi e di numerosi bufi adulti.

Com'è noto il canalicolo urinario dei batraci comprende i seguenti segmenti: 1° Colletto ciliato. 2° Segmento tappezzato da cellule con orlo a spazzola. 3° Segmento intermediaro con una parte ciliata. 4° Segmento delle cellule a bastoncini. 5° Tubo escretore con cellule cilindriche o cubiche.

Noi prenderemo qui in esame il secondo segmento che è l'omologo del tubulo contorto dei mammiferi e come questo attivamente funzionante.

Le cellule che tappezzano i canalicoli del mesonefro hanno una struttura variabile in rapporto con lo stato funzionale e che è identica per le cellule di uno stesso canalicolo.

Nelle cellule in riposo si riscontra la forma caratteristica delle cellule a bastoncini: questi si estendono generalmente dalla base sin verso la zona prossimale, ove si ha un orletto che ha l'apparenza di una cuticola: alle volte invece i bastoncini sono più corti e si dispongono uno dietro l'altro per raggiungere l'intera lunghezza della cellula.

Nelle cellule in attività la struttura sopradescritta viene ad essere profondamente modificata. Dal paragone tra cellule in riposo e cellule funzionanti risalta subito agli occhi che mentre nelle cellule a riposo si ha la disposizione caratteristica dei plastoconti, in quelle in attività sono appunto i plastoconti che vanno incontro a modificazioni. In una prima fase del processo di secrezione, facilmente rivelato dalla presenza di piccoli granuli di secrezione verso l'apice delle cellula, i bastoncini diventano più brevi e si risolvono in granuli (fig. 31—32). Più tardi i granuli ingrossandosi sempre più diventano granuli di secrezione. In moltissimi casi ho notato nelle cellule in attività la presenza di piccoli granuli scolorati al centro od addirittura di anelli (fig. 33) i quali sono evidentemente in connessione con l'attività secretoria della glandola, perchè essi procedendo verso la zona prossimale della cellula si trasformano nelle caratteristiche vescicole di secrezione. Spesso gli anelli sono in connessione con un filamento risultante dalla disgregazione dei bastoncini.

I granuli di secrezione aumentano sempre più di volume fino a diventare grosse vescicole che riempiono tutto il corpo cellulare. Esse sono situate dentro vacuoli delimitati dai plastosomi rimasti nel corpo cellulare (fig. 34—35): alcune delle vescicole sono chiare, altre scure e restano tali anche con una prolungata differenziazione.

In uno stadio ulteriore, la cellula perde le vescicole di secrezione, le quali non sono mai escrete come tali, perchè non se ne riscontra nel lume dei canalicoli.

È interessante notare che per quanto avanzato sia il processo di secrezione, non si ha mai la scomparsa completa dell'elemento plastosomiale.

L'attività secretoria delle cellule renali è accompagnata da due altre modificazioni strutturali e cioè la cellula aumenta in altezza ed in una fase speciale presenta un evidentissimo orlo a spazzola, che manca invece nelle cellule a riposo.

Nelle **cellule nervose** di *Bufo* riesce facile seguire le modificazioni alle quali vanno incontro i plastosomi nel corso dello sviluppo. I reperti

ottenuti in questo animale non coincidono perfettamente con quelli che molti Autori hanno ottenuto nel pollo.

In una larva lunga mm. 4 (fig. 36) il sistema nervoso centrale è già nelle sue linee generali perfettamente abbozzato. Esso risulta costituito da una grande quantità di cellule: nelle parti più periferiche si trova in alcune sezioni anche una tenue trama di fibrille che rappresentano l'abbozzo della sostanza bianca. Le cellule sono generalmente di grandi dimensioni, ma in alcune regioni sono invece molto piccole.

Prenderemo le prime a tipo della descrizione. Esse sono caratterizzate dalla grossezza del nucleo, mentre il protoplasma è molto scarso. In esso si notano dischi di vitello e granuli, alcuni dei quali sono naturalmente pigmentati, altri invece si colorano con l'ematossilina. Poichè il pigmento è molto abbondante, l'osservazione microscopica è resa difficile: però con l'esercizio si riesce a differenziare dai granuli di pigmento gli altri granuli che, per il loro modo di comportarsi di fronte ai reagenti e ad alcuni metodi di colorazione, per la loro morfologia, per le modificazioni alle quali, come vedremo, vanno incontro nel corpo dello sviluppo, si debbono considerare come plastosomi.

Oltre ai granuli si nota anche qualche esile bastoncino. I plastosomi sono generalmente addossati alla membrana nucleare e raramente se ne incontrano verso la periferia della cellula: al contrario i granuli di pigmento in immediato contatto col nucleo sono scarsi, mentre sono abbondanti verso le zone periferiche.

Lungo i fasci filamentosi dell'abbozzo della sostanza bianca si notano filamenti mitocondriali brevissimi.

In una larva lunga mm. 5 le cellule nervose si presentano con i caratteri precedentemente descritti: solo si nota che i plastocondri sono aumentati di numero ed un po' anche di volume. In alcune regioni i neuroblasti contengono esclusivamente plastoconti. Alcune cellule sono in via di divisione: in esse (fig. 37) i plastocondri sono disseminati per tutta la massa citoplasmatica, mancando solo nella zona equatoriale. Anche in queste cellule si hanno granuli di pigmento e dischi di vitello.

Nelle zone periferiche del midollo spinale, là dove il velo midollare incomincia a differenziarsi, si nota (fig. 38) lungo le fibrille nervose la presenza di plastoconti che sembrano sovrapposti alle fibrille stesse: essi sono in continuazione con i bastoncini delle cellule alle quali le fibrille appartengono.

In questo stadio ho riscontrato una particolarità che chiarisce i rapporti tra plastosomi e pigmento. Nella regione della volta delle vescicole cerebrali si nota una estroflessione (fig. 39) che aumenta sempre più

di volume man mano che si procede nello sviluppo e che è destinata a dare origine ad una formazione della volta. In tale zona di estroflessione le cellule, di forma più o meno rotondeggiante, con grosso nucleo e scarso protoplasma, si presentano particolarmente ricche di plastocondri: in alcune è facile riconoscere anche granuli di pigmento, ed in qualche cellula poi tutto il protoplasma è pieno di pigmento, sì che riesce difficile stabilire se fra i granuli pigmentati si trovino plastocondri.

Esaminando questa stessa formazione in stadì ulteriori dello sviluppo, si nota che essa diventa sempre più voluminosa, i granuli di pigmento invadono sempre più gli elementi cellulari, mentre il numero dei plastocondri va progressivamente diminuendo.

In una larva lunga mm. 7 si notano su per giù le particolarità riscontrate nella larva precedente, e cioè nelle cellule nervose si hanno plastocondri e plastoconti, e lungo le fibrille nervose si trovano scaglionati dei plastoconti. Quà e là ho riscontrato qualche cellula nervosa abbastanza grossa (fig. 40) con nucleo vistoso e protoplasma abbondante verso un polo nucleare: in tale zona di protoplasma è facile riconoscere un mucchio di plastocondri disposti in immediato contatto del nucleo e tutto alla periferia una corona di granuli di pigmento.

In una larva lunga mm. 8 si riconoscono chiaramente i primi abbozzi dei gangli cerebrospinali. Le loro cellule si presentano con aspetto vario a seconda del grado di sviluppo (fig. 41). Le più piccole hanno un grosso nucleo e nell'esile alone protoplasmatico si nota la presenza di rari granuli e di pigmento. Nelle cellule più grosse, caratterizzate oltre che dalla maggiore ampiezza del nucleo, anche dal maggiore sviluppo del protoplasma, i plastosomi sono riuniti in un mucchio ad un polo nucleare il quale generalmente a questo livello suole essere un po' depresso; essi sono rappresentati da granuli di diverso volume ed anche da qualche esile bastoncino: ma difficile riesce distinguere i singoli elementi perchè sono insieme strettamente avvicinati in una massa compatta che a forte ingrandimento appare granulosa. Nel resto del protoplasma si hanno rari granuli.

In alcune delle cellule più grandi i plastosomi sono rappresentati da grossi granuli sparsi uniformemente nel citoplasma: essi sono un po' più grossi dei granuli riscontrati nelle altre cellule, ed anche molto radi.

Nei gangli si nota anche la presenza di fasci nervosi e lungo le fibrille si vedono scaglionati numerosi plastoconti.

Nei neuroblasti dell'asse cerebro-spinale (fig. 42) si riscontrano oltre a rari plastocondri, anche plastoconti rappresentati da brevi bastoncini:

in nessuna cellula si hanno i filamenti lunghi e tortuosi descritti in altri animali.

In una larva lunga mm. 17 si riscontrano su per giù le particolarità osservate nello stadio precedente. Nelle cellule più giovani dei gangli cerebrospinali i plastosomi formano un mucchio collocato in una depressione della superficie nucleare: nelle cellule più avanzate nello sviluppo il mucchio tende a risolversi nei suoi elementi che si sparpagliano in tutto il corpo cellulare: e finalmente si riscontrano cellule molto sviluppate (fig. 43) con grossi plastocondri e brevi plastoconti. Nei neuroblasti dell'asse nervoso (fig. 44) i plastosomi hanno forma di brevi bastoncini disposti secondo l'asse maggiore della cellula: essi si continuano con i bastoncini situati lungo il cilindrasse: quà e là si riscontrano anche dei granuli.

In una larva lunga mm. 22 si notano chiaramente lungo il cilindrasse delle cellule nervose dei plastoconti più o meno lunghi disposti secondo la lunghezza della fibra. Questa particolarità è ben evidente anche nei cilindrassi delle radici spinali, già avvolti da mielina.

In una larva che misura 30 mm. di lunghezza totale si nota in corrispondenza della zona ventrale della sostanza grigia spinale la presenza di voluminosi amassi di elementi cellulari, a nucleo ovoidale, e con abbondanti plastoconti, orientati secondo l'asse maggiore della cellula e che si continuano con i plastosomi del cilindrasse rispettivo.

Nelle regioni superiori del nevrasse le cellule sono generalmente meno sviluppate, sicchè i plastosomi sono ancora rappresentati da granuli più o meno grossi e da bastoncini brevi e rari. Però non è infrequente riscontrare, p. es. nel bulbo, delle cellule le quali sono già notevolmente differenziate. La fig. 45 rappresenta appunto una cellula del bulbo nella quale i bastoncini sono molto lunghi e con la disposizione presso a poco eguale a quella che si ha nelle cellule nervose adulte.

Nei gangli cerebrospinali si hanno, in mezzo a cellule piccole con plastosomi granulari, grossi elementi cellulari ben sviluppati (fig. 46), nei quali i plastosomi hanno forma di granuli e di bastoncini disposti presso a poco come nelle cellule adulte dei gangli cerebrospinali.

Lo studio della istogenesi del **pancreas** riesce difficile per la grande quantità di vitello che nei primissimi stadi di sviluppo si trova negli elementi cellulari. Tralascerò quindi lo studio di tali stadi ed incomincerò dalla descrizione della cellula pancreatica in una larva di mm. 17.

Già in questo stadio la cellula mostra i segni della sua attività secretoria e cioè presenta granuli di secrezione. Si noti però che è molto varia-

bile l'epoca nella quale l'organo incomincia a secernere, e difatti in qualche larva più sviluppata di quella di mm. 17 questa funzione non è ancora iniziata.

Nella larva lunga mm. 17 i plastosomi della cellula pancreatica sono rappresentati da lunghi filamenti, abbastanza spessi, situati lungo l'asse maggiore della cellula; essi sono indipendenti l'uno dall'altro e si spingono fin verso la zona distale nelle quale si trovano oltre a catenelle di granuli anche abbondanti granuli di zimogeno, grossi e piccoli (fig. 47).

In una larva lunga mm. 30 ho ottenuto i più eleganti reperti di plastosomi delle cellule pancreatiche: in tale stadio le cellule hanno raggiunto il loro completo sviluppo. I plastosomi sono numerosi e variamente distribuiti: generalmente sono rappresentati da grossi filamenti più o meno lunghi, situati nella zona prossimale della cellula, mentre in quella distale si hanno i granuli di zimogeno (fig. 48). Tale distinzione però non è netta: spessissimo si vedono i plastoconti estendersi fin nella zona sopranucleare in mezzo ai granuli di zimogeno. I filamenti sono generalmente disposti secondo il maggior asse della cellula, però nella zona sottonucleare possono situarsi in direzione trasversale. Inoltre in molti casi i plastoconti si anastomizzano fra di loro. Questa particolarità, già evidente nelle sezioni che interessano la cellula longitudinalmente, è spesso più evidente nelle sezioni trasversali dell'elemento cellulare. Le reti originatesi da queste anastomosi tra i plastoconti hanno estensione ed aspetto molto variabili. Generalmente i filamenti conservano lo stesso calibro per tutta la loro lunghezza: solo raramente ho visto che essi si rigonfiano ad un estremo in una specie di anello terminale, il quale talvolta sembra anche indipendente dal filamento stesso.

Non tutte le cellule si presentano provviste di granuli di zimogeno: spesso essi mancano o sono molto scarsi ed in tal caso i plastosomi si estendono fin verso la superficie libera della cellula.

Nella cellula pancreatica adulta non ho mai ottenuti reperti così chiari come quelli avuti nello stadio larvale.

Studiando **l'ectoderma** delle larve di *Bufo* nei primissimi stadi di sviluppo, è stato ricordato come esso risulti da due strati di cellule, uno strato superficiale di cellule allungate, alcune delle quali provviste di ciglia vibratili, ed uno strato basale di cellule appiattite: in tutte le cellule si hanno plastosomi, granuli di pigmento e dischi di vitello. Più tardi le ciglia scompaiono e così pure il pigmento ed il vitello: nello stesso tempo i granuli plastosomiali assumono debolmente la tinta ematossilinica e diminuiscono di numero. È impossibile seguire l'ulteriore evoluzione di

questi ultimi, perchè la pelle degli anfibi non si presta bene per questo genere di ricerche.

Procedendo nello sviluppo si nota nell'epidermide la comparsa di robusti filamenti che corrispondono a quelli descritti da Eberth, Bataillon, Duesberg. Essi sono intensamente colorati dall'ematossilina.

Ho potuto seguire lo sviluppo delle **cellule pigmentate della pelle.**

In una larva lunga mm. 17 si nota al di sotto dell'epidermide la presenza di cellule di forma stellata o fusiforme. In alcuni punti esse sono molto numerose e possono anche riunirsi in gruppi, in altri punti sono invece isolati; gli elementi cellulari più adulti sono più grossi e con prolungamenti cellulari talora abbastanza lunghi. Nelle cellule anzidette il protoplasma presenta plastosomi granulari (fig. 49) e solo raramente si ha qualche brevissimo bastoncino. Nelle cellule poco sviluppate i plastosomi appaiono dapprima raccolti in un piccolo mucchio addossato ad un punto della superficie nucleare; man mano che la cellula procede nello sviluppo i granuli si espandono per tutto il corpo cellulare. Non sempre però si ha questo mucchio iniziale, perchè alle volte si vedono cellule molto giovani con granuli diffusi per tutto il citoplasma.

Le cellule contengono inoltre granuli di pigmento che hanno le stesse dimensioni dei plastosomi. La quantità del pigmento è estremamente variabile: in quelle più giovanili si hanno solamente plastosomi e, solo raramente, qualche granulo pigmentato: nelle cellule che incominciano già ad avere qualche prolungamento si hanno contemporaneamente plastosomi granulari e discreta quantità di pigmento, e finalmente nelle cellule molto sviluppate il pigmento è molto abbondante e riempie tutto il corpo cellulare, sì che riesce impossibile riconoscere in mezzo ad essi la presenza di plastosomi. Anche fra le cellule dell'epidermide si hanno grossi elementi pigmentati a forma stellata, raggiata, con prolungamenti più o meno lunghi: in essi si riscontrano le particolarità sopraricordate e cioè nelle cellule piccole si hanno solo plastocondri, in quelle un po' più avanzate nello sviluppo si hanno plastosomi e granuli di pigmento, e finalmente in quelle più grandi e provviste di lunghi filamenti tutto il corpo cellulare è pieno di granuli di pigmento. Fatti identici ho riscontrato nelle cellule della **coroide**: anche qui le cellule contengono dapprima solo plastosomi, e successivamente man mano che il pigmento si va formando, i plastosomi diminuiscono di numero.

Nelle larve degli anfibi si sviluppano in vicinanza della bocca organi speciali adesivi **(Sauggruben)** i quali sono destinati dopo breve tempo

a scomparire. All'esame microscopico risultano costituiti da cellule epiteliali differenziate in elementi glandolari.

Ogni cellula, molto lunga, presenta un nucleo centrale, allungato, scarsi dischi di vitello ed abbondante pigmento, ed in mezzo a questo plastoconti e condriomiti. La porzione distale della cellula è occupata da uno zaffo probabilmente mucoso: i plastosomi (fig. 8) si arrestano in corrispondenza del margine di detto zaffo ed il limite di separazione è ben netto. Nella cellula inoltre si hanno abbondanti vacuoli circoscritti da plastosomi e pigmento.

Altre produzioni di origine ectodermica sono i **denti cornei**. Esaminando una sezione del mascellare inferiore di una larva lunga mm. 17 si notano delle serie verticali di 6—8 cellule (fig. 50) sovrapposte, le quali presentano caratteri speciali a seconda del livello nel quale sono situate. Le cellule dello strato basale hanno i caratteri delle ordinarie cellule epidermoidali, in mezzo alle quali sono collocate: e cioè sono cellule di forma irregolarmente cubica, provviste di spine alla loro superficie, e contengono plastocondri e plastoconti distribuiti irregolarmente per tutto il corpo cellulare. Immediatamente al di sopra si ha uno strato di cellule (2—3), appiattite, anch'esse provviste di spine e di plastosomi granulo-filamentosi. Le cellule soprastanti sono appiattite e grandi con nucleo allungato in senso orizzontale: i plastosomi sono in grande quantità e sono quasi tutti granulari e situati nella zona basale o sottonucleare: raramente se ne ha nella zona sopranucleare: anche queste cellule sono provviste di spine. Succedono ad esse cellule più grandi a nucleo vistoso, e nelle quali i plastosomi sono più grossi e tendono ad assumere forma filamentosa. Veri e propri plastoconti si hanno nelle cellule più alte, che sono molto lunghe. E finalmente si ha una cellula apicale, che manca spesso di nucleo o presenta il nucleo in via di regressione, e con protoplasma vacuolato, più colorato delle cellule sottostanti, nel quale si trovano rari plastosomi granulari o filamentosi. Questa cellula è sormontata di una formazione a semiluna, la quale si colora intensamente con l'ematossilina e che rappresenta una cellula già corneificata.

Lo sviluppo dei plastosomi nelle **fibre muscolari lisce** si può seguire in parecchi organi: ho ottenuto i risultati più dimostrativi studiando lo sviluppo della tunica muscolare dell' intestino. Questa risulta costituita dapprima da cellule fusate (fig. 51) nelle quali i plastosomi sono rappresentati da filamenti più o meno lunghi disposti secondo l'asse maggiore della cellula: però a ciascuno dei poli del nucleo si ha un piccolo mucchio di plastocondri. In sezione trasversale le fibre appaiono ricche di granuli

(fig. 52) che rappresentano la sezione trasvera dei plastosomi e sono generalmente situati nella parte più periferica della fibra, ma si incontrano anche sezioni di cellule con granuli situati nella zona centrale.

Procedendo nello sviluppo, i filamenti mitocondriali si fanno sempre più rari e finalmente nelle fibre muscolari adulte scompaiono del tutto; resta però sempre in corrispondenza di ciascuno dei due poli nucleari un mucchietto di plastocondri.

Oltre che nei tessuti e negli organi sopraricordati, ho studiato lo sviluppo dei plastosomi nelle fibre muscolari striate, nell'epitelio pigmentato della retina e nei gonociti. Per quanto riguarda i gonociti, le mie ricerche concordano con quelle ottenute da Levi in *Triton*, e quindi mi dispenso dal descrivere i reperti ottenuti. Quanto poi alle fibre muscolari striate ed all'epitelio pigmentato della retina, rimando ai miei lavori precedenti, già citati, nei quali ho appunto esposto i risultati delle mie ricerche sullo sviluppo dei plastosomi nella fibra muscolare striata e nell'epitelio pigmentato retinico in *Bufo vulgaris*.

Riassunto critico.

L'esame dei risultati ottenuti studiando lo sviluppo dei plastosomi in *Bufo v.* mi offre l'opportunità di intrattenermi su di alcuni dei problemi riguardanti il significato dei plastosomi e la loro importanza come organuli cellulari. Ed incomincerò col riassumere quanto è stato da me osservato durante l'ovogenesi. Tralascio per ora di descrivere la forma e la distribuzione dei plastosomi negli oogoni e mi limito soltanto a riferire i fatti principali osservati nel periodo di accrescimento dell'oocita, e riguardanti in special modo l'origine del pigmento e del vitello.

Ovogenesi (pigmentogenesi e vitellogenesi).

L'origine del pigmento nell'uovo degli Anfibì è stata studiata da Wagner; egli sostiene in base a ricerche fatte in *Rana temporaria* ed *esculenta* che nella formazione del primo pigmento dell'uovo non intervengono melanoblasti che trasportino il pigmento dallo stroma dell'ovario nell'uovo, ma che il pigmento si forma nell'uovo stesso. In tale processo di formazione interviene la vescicola germinativa. L'A. ammette tale intervento perchè il pigmento appare dapprima in vicinanza del nucleo e perchè esso è più abbondante là dove la vescicola germinativa presenta una maggiore superficie di contatto col vitello e cioè dove le prominenze formate dalla vescicola germinativa sono più grosse.

Connesso a questo problema è evidentemente anche quell'altro riguardante l'origine del pigmento nelle larve degli Anfibi. GALEOTTI, al quale dobbiamo importanti studi in proposito, sostiene che il pigmento delle cellule epiteliali degli Anfibi deriva da una trasformazione dei granuli fucsinofili che egli ha descritto in tali cellule. Per la completa bibliografia rimando ai miei lavori sul pigmento.

Riassumo ora brevemente i risultati da me ottenuti.

Prima ancora che il pigmento faccia la sua apparizione, si nota nell'oocite la presenza di plastosomi disposti a mucchi nell'endoplasma, ove formano un anello più o meno completo attorno al nucleo. Son questi gli ammassi vitellogeni descritti da VAN DER STRICHT e dalla sua scuola, e la cui natura plastosomiale è stata riconosciuta dai vari Autori che li hanno studiati. Anche nelle altre zone dell'oocite si hanno plastosomi disseminati in forma di granuli, di catenelle di granuli e di filamenti. Più tardi gli ammassi vitellogeni si disgregano ed i plastosomi che li costituiscono si disseminano per tutto l'oocite e si risolvono in granuli. È in questo periodo che fa la prima apparizione il pigmento; in mezzo ai plastocondri dell'endoplasma appaiono granuli dapprima pallidi, e che in seguito assumono la tinta caratteristica del pigmento. I granuli di pigmento sono certamente dovuti alla trasformazione dei plastocondri, e difatti man mano che il numero dei granuli pigmentati cresce, i plastosomi granulari diminuiscono di numero: di più si vede chiaramente che questi perdono a poco a poco la loro tinta, data dall'ematossilina, per acquistare quella del pigmento.

La formazione del pigmento nell'uovo di *Bufo* procede quindi come la formazione del pigmento retinico, da me ampiamente studiata; e cioè si hanno dapprima plastosomi i quali ulteriormente diventano granuli di pigmento. Rimando per il problema riguardante i rapporti tra plastosomi e pigmento retinico ai miei precedenti lavori.

Lo studio dell'oocite di *Bufo* mi ha permesso anche di esaminare il modo di formazione del vitello nutritivo. Mi occuperò più diffusamente della vitellogenesi in *Bufo v.* in un lavoro successivo, pel quale le ricerche sono già in corso: qui mi limiterò solamente a riferire quanto è stato da me osservato studiando le modificazioni dei plastosomi nell'oocite, e cercherò, se è possibile, mettere in relazione le mie ricerche con quelle fatte per altri animali da altri Autori.

Com'è noto, la vitellogenesi dell' uovo è stata ampiamente studiata da VAN DER STRICHT e dalla sua scuola. Secondo quest'Autore, nell'uovo della donna la zona vitellogena, che risulta formata da plastosomi, si disgrega e dà origine ad ammassi vitellogeni, anch'essi formati da plastosomi.

Più tardi si ha la disgregazione di questi ammassi vitellogeni, sicchè tutto il citoplasma è invaso da granellini plastosomiali e condriomiti. La dissociazione delle masse vitellogene è accompagnata dalla apparizione del vitello nutritivo. Quanto ai rapporti tra i plastosomi e l'elaborazione del vitello nutritivo, van der Stricht ammette che essi siano abbastanza intimi: il vitello nutritivo si forma, secondo questo A., a spese dei plastosomi; pare però che i vacuoli deutoplasmatici non siano dovuti ad una trasformazione diretta dei mitocondri, ma che essi si formino a spese dei prodotti di disgregazione di questi elementi, quindi di una maniera più o meno indiretta e con un processo difficile a determinarsi col microscopio. I plastosomi interverrebbero anche nella formazione del vitello plastico.

Già prima del van der Stricht, van Bambeke aveva dimostrato l'intervento di granuli speciali, safranofili, risultanti dalla disgregazione delle masse vitellogene, nell'elaborazione dei materiali nutritivi dell'ovo di *Pholeus phalangioides*; questi granuli sono evidentemente, come anche ammette van der Stricht, di natura mitocondriale.

Ma prima ancora del Bambeke i fratelli Zoia avevano visto nella *Cavia*, in *Ciona* ed in *Ascaris* e colorato elettivamente col metodo Altmann dei granuli ai quali avevano dato il nome di plastiduli, e che corrispondono ai plastosomi: essi avevano anche ammesso la loro trasformazione in deutoplasma. Precisamente in *Helix pomatia* questi Aa. avevano trovato forme di passaggio tra i plastiduli fucsinofili e le gocce di grasso.

Alle ricerche di van der Stricht sono seguite quelle di un grande numero di osservatori, che hanno appunto cercato di approfondire i rapporti tra plastosomi di Benda e granuli di vitello.

Lams ha dimostrato nelle uova dei Teleostei ed anche in quelle di Anfibi che gli ammassi vitellogeni sono di natura mitocondriale: essi si disgregano ed hanno una grande importanza nel processo di formazione del vitello. Anche Bluntschli ammette che i plastosomi intervengono nella genesi del vitello. Russo sostiene che nell'ovulo di coniglio i plastosomi rappresentano il centro di formazione dei globuli vitellini: questi ultimi deriverebbero o dalla trasformazione diretta dei plastosomi i quali si gonfiano e perdono i caratteri specifici di colorabilità o dalla fusione di più plastosomi i quali a loro volta si trasformano anche chimicamente. Non tutti i plastosomi però si trasformano in granuli di vitello: alcuni restano nell'elemento a completo sviluppo e sono come tali trasmessi alle cellule dell'embrione.

Loyez ha studiato il modo di svilupparsi del vitello dai plastosomi nell'oocite di alcuni Tunicati. Mentre van der Stricht ammette che

il vitello dell'uovo dei mammiferi proviene, ma indirettamente, dai plastosomi, in quanto che esso deriva dai prodotti di disgregazione degli elementi plastosomiali. Loyez in alcuni Tunicati ha riscontrato una trasformazione diretta di questi ultimi in vitello; in alcune Ascidie invece gli elementi vitellini non derivano dai plastosomi, ma si formano indipendentemente da questi ultimi. In una nota successiva Loyez ritorna sull'argomento, affermando che nell'oocite della donna si ha una trasformazione diretta dei plastosomi in elementi vitellini, così come avviene nel pipistrello (van der Stricht), nel coniglio (Russo) e nei Tunicati (Loyez).

Ciaccio ha notato che il corpo vitellino degli anfibi anuri, corrispondente secondo lui al corpo vitellogeno di van der Stricht, va incontro durante l'evoluzione degli oociti a trasformazioni importanti. Dapprima essa si presenta a guiso di un grosso corpo di forma semilunare, irregolare, costituito di granuli piccoli e numerosi, colorabili col Sudan, molto avvicinati tra di loro: man mano nel suo spessore si notano dei piccoli granuli lipoidi e qualche rara vescicola: finalmente in una fase avanzata il corpo vitellino si mostra costituito in gran parte da granuli e vescicole lipoidi, le quali disgregandosi, si diffondono nel protoplasma. Queste vescicole rappresentano indubbiamente elementi di vitello nutritivo. Anche la zona esterna dell'oocite è riccamente provvista di lipoidi i quali sono tanto più abbondanti, quanto più l'oocite si avvicina al suo stato di maturità: dall'esame delle figure annesse al lavoro di Ciaccio appare come gli elementi vitellini si formino nell'endoplasma a spese della zona vitellogena ed anche nello strato corticale dell'ectoplasma. Anche Levi ha recentemente studiato i rapporti tra plastosomi e genesi del vitello: egli esclude però che i plastosomi da lui descritti nell'oocite di *Triton* si trasformino in deutoplasma.

Riassumo ora brevemente i risultati delle mie ricerche in *Bufo*. Nel periodo di accrescimento dell'oocite ho riscontrato la presenza di plastosomi in forma di granuli, di catenelle di granuli e di filamenti. Strutture filari nell'oocite di Anfibi sono state descritte da diversi Autori. Ricordo in proposito le ricerche di Schmidt negli oocite di *Proteus*; quelle di Lams, il quale descrisse filamenti nell'oocite di rana, interpretandoli come formazioni ergastoplastiche; quelle di Retzius sull'oocite degli Anfibi: questo A. dimostrò nell'oocite, prima della comparsa del deutoplasma, filamenti moniliformi o mitoma in mezzo ad un paramitoma omogeneo. Retzius afferma che i filamenti non si trasformano mai in granuli di vitello, ma che questi si originano direttamente dal paramitoma. Ma le ricerche più complete sono quelle di Levi il quale, come ho già detto, ha studiato l'oocite di *Geotriton fuscus*. Qui egli ha trovato, nel periodo di accresci-

mento, condrioconti che si distribuiscono in modo vario a seconda del grado di sviluppo; trova anche granuli sparsi che interpreta come sezioni trasverse di condrioconti. Tali reperti l'A. ha ottenuto tanto in pezzi fissati in liquido di Maximow, di Benda e di Regaud, quanto anche sull'oocite vivente.

Tolta qualche lieve differenza, riguardante specialmente i plastocondri e i condriomiti da me riscontrati, il reperto di forme filamentose nell'oocite di *Bufo* conferma le belle ricerche di Levi in *Geotriton.* Il Levi ha anche descritto nell'oocite di *Geotriton* degli ammassi molto colorati, a contorni non ben distinti, che a forte ingrandimento si rivelano costituiti da un fitto intreccio di filamenti: essi hanno molta analogia con quella che Lams interpretò come zona vitellogena, e secondo Levi sono artefatti.

Anch'io ho riscontrato in *Bufo* tali ammassi, che corrispondono evidentemente agli ammassi vitellogeni di van der Stricht, ma non credo si debbano interpretare come artefatti. La loro regolarità e specialmente la loro costanza in determinati periodi dello sviluppo dell'oocite, mentre in altri periodi sono sempre assenti, mi fanno pensare che essi corrispondano a strutture reali, la cui presenza non è affatto legata all'azione alterante dei liquidi fissatori.

Quanto poi allo sviluppo del vitello ed ai suoi rapporti coi plastosomi, i fatti da me osservati sono stati i seguenti. La formazione del vitello nutritivo avviene dapprincipio alla periferia dell'oocite. Qui appaiono dapprima dei granuli che si trasformano poi a poco a poco nelle vescicole di vitello: è facile riconoscere tutti gli stadi di passaggio tra le forme granulari e quelle vescicolari. La produzione del vitello è continua; le vescicole di nuova produzione spingono sempre più verso l'endoplasma quelle già formate, sicchè le vescicole più antiche, riconoscibili pel loro volume, sono situate verso le parti più centrali dell'oocite, mentre le più giovani sono situate alla periferia. Più tardi, quando già gran parte dell'ectoplasma è pieno di vitello nutritivo, si ha una nuova sorgente di granuli di vitello: in mezzo al pigmento ed ai plastocondri dell'endoplasma si differenziano dei granuli intensamente colorati, disposti a mucchi; alcuni sono minutissimi ed hanno i caratteri dei plastocondri sicchè non si possono distinguere dai plastocondri vicini: altri hanno invece assunto quell'aspetto che è proprio delle gocce di vitello, e tra gli uni e gli altri si hanno tutti gli stadi di passaggio.

Riassumendo quindi, i plastocondri dell'endoplasma danno origine prevalentemente al pigmento; alcuni però danno origine ad una porzione, la più piccola, del vitello; altri infine restano come tali anche quando

l'ovo è giunto al suo completo sviluppo e son questi verosimilmente i plastocondri che ritroveremo nelle cellule provenienti dalla divisione dell'ovo.

Resta intanto a stabilire qual'è l'origine del vitello nutritivo che appare sin da principio alla periferia dell'oocite e che, aumentando sempre più, è destinato ad invadere la massima parte dell'elemento cellulare. Si è visto come le vescicole vitelline della periferia dell'oocite si originano da grossi granuli e come questi derivino a loro volta da granuli più piccoli e che hanno le dimensione dei granuli plastosomiali che si trovano nel resto dell'oocite. È interessante stabilire se questi granuli piccoli della periferia dell'oocite sono anch'essi di natura plastosomiale o se essi rappresentano sin da principio dei granuli deutoplasmatici, e nell'uno e nell'altro caso è necessario determinare se essi sono elementi propri dell'oocite o se provengono dalle cellule follicolari che avvolgono l'oocite stesso. Le mie ricerche non mi autorizzano ad ammettere l'una o l'altra ipotesi, sicchè lascio provvisoriamente insoluta tale quistione, riservandomi di tornare con nuove ricerche sull'argomento.

Cellule provenienti dalle prime segmentazioni dell'uovo e foglietti blastodermici.

Nelle cellule provenienti dalle prime segmentazioni dell'ovo ritroviamo i plastocondri visti nell'ovo a completo sviluppo: essi sono situati attorno al nucleo e di là si irradiano verso le parti periferiche, ma non si spingono sino alla zona più esterna. Questi reperti autorizzano ad ammettere la continuità dei plastosomi nella ontogenesi, continuità ammessa da molti Autori (Meves, Benda, Duesberg, etc.). Quanto agli Anfibi debbo qui ricordare che Levi studiando lo sviluppo del *Triton*, ha trovato qualche indizio che parla in favore della esistenza di condrioconti nelle cellule provenienti dalle prime segmentazioni dell'ovo: egli cita a tal proposito le importanti ricerche del Ruffini il quale, negli elementi ectodermici della gastrula di *Triton cristatus* trovò filamenti identici per forma e lunghezza a quelli che Levi trovò negli oocite di *Geotriton*. I filamenti visti dal Ruffini però in qualche caso sono anastomizzati a rete e questo, secondo Levi, dipende probabilmente dalla fissazione in liquido di Kleinemberg, poco adatto alla conservazione dei condrioconti.

I plastosomi da me osservati nelle prime cellule risultanti dalla segmentazione dell'ovo sono di forma granulare: non mi è stato mai possibile riscontrare plastoconti. La differenza del reperto dipende probabilmente dalla diversità del materiale adoperato e forse anche dalla diversa epoca dello sviluppo larvale. Anch'io di fatti negli stadi successivi dello

sviluppo ho riscontrato nelle cellule ectodermiche oltre a granuli anche filamenti, e man mano che si procede nello sviluppo si nota che nelle cellule dell'embrione i plastocondri vengono in gran parte sostituiti da plastoconti.

I miei riperti di plastocondri nelle cellule risultanti dalle prime segmentazioni dell'ovo coincidono con quelli di Rubashkin il quale, studiando lo sviluppo dei plastosomi negli embrioni di cavia, ha trovato che nello stadio a quattro cellule ogni blastomero contiene una grande quantità di granuli raccolti specialmente nell'endoplasma, attorno al nucleo. Anche van der Stricht nel topo e nella cavia ha trovato nello stadio a due cellule plastosomi in forma di granuli piccoli, ed anche Duesberg ha descritto questi granuli nel coniglio: quest'ultimo A. ha poi riscontrato nei primi blastomeri di *Triton* i granuli (mitocondri) che Benda ha descritto nello stesso animale ed ha osservato la loro trasformazione in sottili filamenti nelle cellule della gastrula. Coincidono anche con i risultati di Rubashkin sui mammiferi quelli da me ottenuti sugli Anfibi, e cioè appena si differenziano i foglietti embrionali, le cellule contengono oltre a granuli anche catenelle di granuli e filamenti.

Pronefro e mesonefro.

Benda per il primo ha descritto i plastosomi nelle cellule dell'epitelio renale: egli ha notato in queste cellule l'esistenza di formazioni protoplasmatiche a forma di filamenti costituiti dall'allineamento in serie di granuli mitocondriali e corrispondenti ai bastoncini di Heidenhain. Ma già prima del Benda l'Altmann aveva notato nelle cellule renali l'esistenza di »vegetative Fäden« che corrispondono appunto ai filamenti descritti dal Benda. Cesa Bianchi ha recentemente messo in dubbio la natura plastosomiale dei bastoncini di Heidenhain perchè, secondo lui, a spiegarla non può essere invocato nè il criterio morfologico nè quello microchimico. Per quanto riguarda il criterio morfologico, l'A. parte dal presupposto che i mitocondri nel senso di Benda debbano essere costituiti da granuli disposti in serie a guisa di catene di streptococchi: ora, poichè nelle cellule renali le supposte formazioni mitocondriali possono presentarsi sotto i più svariati aspetti, da filamenti omogenei paralleli fra loro a catene di granuli più o meno regolari ed a granuli sparsi, l'A. non crede che esse rappresentino veramente mitocondri. Per quanto riguarda poi il criterio microchimico, Cesa Bianchi crede che neppure questo parli in favore della natura mitocondriale dei bastoncini di Heidenhain, perchè appunto nella cellula renale i lipoidi sono abbondanti sia sotto forma diffusa che di «enclaves lipoides», e d'altra parte tutti i metodi di fissazione della tecnica

istologica provocano modificazioni più o meno profonde dei bastoncini e dissoluzione delle sostanze lipoidi, le quali in fondo conducono secondo l'A. alla formazione di granuli minuti rivestiti da una membrana lipoide o lipoproteide e che quindi presentano le reazioni microchimiche di queste sostanze. «Appare perciò difficile allo stato attuale delle nostre conoscenze considerare con Benda i bastoncini di Heidenhain come i mitocondri della cellula renale».

Date le nostre conoscenze attuali sui plastosomi, le ragioni addotte dal Cesa Bianchi non sono più sostenibili, e difatti non è necessario che i plastosomi siano formati da granuli disposti in serie come catene di streptococchi, e d'altro lato, per quanto riguarda il criterio microchimico, ricordo le ricerche di Ciaccio sulle cellule renali di *Bufo*, da me confermate, e che dimostrano come nelle cellule renali dopo cromizzazione e successiva colorazione col Sudan i bastoncini si presentano ben conservati e colorati in orange.

L'argomento è stato anche studiato dal Duesberg il quale riconosce che un argomento decisivo per la natura plastosomiale dei bastoncini di Heidenhain ancora non esiste, sebbene alcuni fatti depongano per tale natura. Le sue osservazioni sull'embrione di pollo mostrano difatti che nel corpo di Wolff esistono strutture spesso identiche con quelle che sono state osservate da Policard nelle cellule renali adulte ed anche Levi ha recentemente notato questo fatto. Duesberg però dice che sarebbe necessario seguire lo sviluppo dei plastosomi del rene passo a passo, la qual cosa fino ad oggi non è stata ancora fatta.

Le mie ricerche colmano appunto tale lacuna e mostrano che le formazioni plastosomiali dell'adulto derivano da quelle embrionali e quindi i filamenti sono dovuti all'allungamento delle forme granulari iniziali. Le cellule che tappezzano nel pronefro i canalicoli appena formati e quelle che formano nel mesonefro i cordoni cellulari i quali in seguito si trasformano in canalicoli renali, presentano plastosomi in forma di granuli; oltre ad i granuli sparsi si ha in ogni cellula un ammasso di plastosomi situato ad un lato della periferia del nucleo. Pare che appunto da questo ammasso iniziale provengano i plastosomi delle cellule adulte: essi sono dapprima in forma di granuli e poi, allungandosi, assumono la forma di bastoncini. Ho voluto ricordare questa particolarità, perchè è stata da me riscontrata spesso anche nello sviluppo delle cellule nervose e delle cellule pigmentate della pelle; in tali cellule embrionali ho infatti spesso notato la presenza di un ammasso di plastosomi dal quale pare che provengano i plastosomi che negli stadi ulteriori si trovano in maggiore o minore quantità nel corpo cellulare.

La coincidenza del reperto merita tutta l'attenzione, ma fino ad ora io non ho elementi sufficienti per stabilirne il vero significato.

Nel pronefro in via di involuzione ho notato fatti degenerativi a carico dei plastosomi[1]). Le nostre conoscenze sulle alterazioni dei plastosomi sono molto limitate. ROMEIS le ha studiato negli spermi di *Ascaris megalocephala*; nei condriosomi fuorusciti dal corpo cellulare ed immersi nel secreto uterino questo A. potè notare fatti di condriolisi; nei condriosomi degli spermi arrivati nell'utero notò anche una fusione di parecchi di essi in una formazione rotonda ed irregolare che dapprincipio mostra ancora la colorazione violetta: a poco a poco nella periferia od anche nell'interno appaiono macchie brune che si estendono sempre più fino a che il violetto è quasi completamente sostituito. Altri Autori hanno studiato il modo di comportarsi dei plastosomi nelle infezioni sperimentali e nelle malattie. D'AGATA ha notato che i plastosomi vanno incontro a modificazioni negli elementi cellulari di animali trattati con tossina difterica: nelle cellule pancreatiche per esempio quest'A. trovò che i condrioconti, che occupano la porzione basale della cellula pancreatica, si presentano per lo più sotto la forma di bastoncini un po' tortuosi con l'estremità rigonfiata in sferula: questa presenta per lo più uno strato esterno (che si colora in nero con l'ematossilina ferrica, in rosso con la fucsina acida, in violetto col metodo BENDA), ed uno interno che si colora debolmente in rosso-aranciato col Sudan III ed in gialletto con l'orange. CIACCIO e SCAGLIONE hanno trovato nelle cellule dei plessi coroidei di conigli sottoposti ad intossicazioni ed infezioni sperimentali notevoli modificazioni dei plastosomi. È degno di nota che essi persistono anche nei gradi avanzati dei processi degenerativi dell'elemento cellulare. Le modificazioni dell'apparato plastosomiale consistono in: 1° ingrossamenti nodulari od uniformi, 2° trasformazione dei plastoconti in condriomiti, 3° trasformazione in granuli diffusi 4° trasformazione vescicolare. Credono gli Aa. che le tre prime varietà di modificazioni dell'apparato plastosomiale si possono considerare come fisiologiche, mentre la trasformazione vescicolare è sempre l'esponente di una alterazione patologica.

Nell'involuzione del pronefro, come ho già esposto nella parte descrittiva, si hanno a carico delle cellule che tappezzano i canalicoli modificazioni notevoli che vanno dalla semplice disgregazione dei bastoncini (plastorexi) alla loro trasformazione in granuli, alla riunione di questi ultimi in masse compatte, dopo di che si arriva alla loro scomparsa più

[1]) Questi reperti sono stati da me brevemente riassunti in una Nota preventiva (Sui fenomeni di plastorexi e di plastolisi riscontrabili nel processo di involuzione del pronefro; Mon. Zool. ital. N. 6. 1913).

o meno completa (plastolisi). Quest'ultima fase coincide con la morte dell'elemento cellulare (fig. 24).

Numerosi osservatori hanno studiato la funzione dei bastoncini di Heidenhain nei processi di secrezione delle cellule renali. Ricordo brevemente quanto è stato scritto in questi ultimi anni sull'argomento. Secondo Regaud lo sviluppo dei condriosomi nelle cellule renali è in ragione inversa di quello dei grani di secrezione: quando gli uni sono in grande numero, gli altri sono scarsamente rappresentati. Già questo fatto lascia prevedere la partecipazione diretta dei plastosomi alla formazione dei granuli di secrezione. Secondo l'A. il processo di secrezione si svolgerebbe in questo modo. In un primo stadio la cellula renale presenta filamenti lungo i quali si hanno dei rigonfiamenti che sono l'abbozzo dei granuli: tra i filamenti si hanno altri granuli isolati o situati alle estremità dei brevi bastoncini. Poi i filamenti si segmentano ed i bastoncini risultanti da tale segmentazione si rigonfiano in granuli: in seguito i granuli occupano tutta la cellula, e finalmente nell'ultimo stadio, al posto di ogni granellino, resta un substrato incolore. L'escrezione esocellulare sembra a questo punto terminata, ma si vedono ancora fini granuli e bastoncini disseminati tra i granuli pallidi. In questi ultimi stadi numerosi plastosomi occupano generalmente la regione sottonucleare. Secondo l'A. quindi i plastosomi rappresentano la matrice dei granuli. Policard ha riscontrato che nelle cellule a bordo striato del 2° segmento del canalicolo urinario dei batraci, omologo del tubo contorto dei mammiferi, il numero dei condriomiti è variabile e le sue variazioni sono in rapporto con la secrezione. Secondo Takaki i bastoncini nella cellula renale del topo sono caratterizzati da formazioni cilindriche omogenee: da queste si passa, in condizioni normali, a granuli disposti dapprima in serie lineari e poi in modo irregolare: i bastoncini si rompono e si trasformano in granuli. Questa apparenza granulosa dei bastoncini rappresenterebbe secondo l'A. uno stadio del processo secretivo. Anche Ciaccio ammette una frammentazione dei bastoncini in rapporto col processo di secrezione e recentemente Kolster, con ricerche fatte nel coniglio, è venuto alle stesse conclusioni.

Levi, in accordo con quanto Policard ha osservato, esclude che avvenga una trasformazione dei plastoconti in secreto: neppure quando la cellula è del tutto priva di granuli, l'A. ha mai notato variazioni nel numero di plastoconti. Secondo Cesa-Bianchi tutti i diversi aspetti dei bastoncini devono essere considerati come prodotti artificiali, dovuti in modo speciale all'azione osmonociva dei comuni liquidi fissatori. Per questo A. anche le vescicole di secrezione sono un prodotto artificiale.

Negli animali da me esaminati ho riscontrato nelle cellule in attività

funzionale una quantità più o meno variabile di vescicole di secreto, che corrispondono appunto a quelle studiate da molti osservatori. Esse sono visibili anche a fresco, sicchè è da escludersi che possono rappresentare un prodotto artificiale.

Quanto all'intervento dei bastoncini nelle funzione glandolare, ho notato le seguenti particolarità: I canalicoli del pronefro sono rivestiti da cellule che nel riposo presentano le caratteristiche delle cellule a bastoncini. Nelle cellule in attività secretoria invece si ha uno spezzettamento dei bastoncini in granuli che in seguito, aumentando di volume, si trasformano in granuli di secreto. Questi fatti sono ancora più evidenti nel mesonefro. Qui ho notato alle volte la presenza di anelli isolati od in connessione con un filamento risultante dalla disgregazione dei bastoncini: essi si trasformano nelle vescicole di secreto.

Come manifestazione dell'attività delle cellule si ha inoltre l'ingrandimento delle cellule stesse e l'apparizione di un orlo a spazzola[1]). Data l'indole del mio lavoro non posso interessarmi di quest'ultima formazione sulla quale molto si è discusso: le mie ricerche mi autorizzano però ad ammettere con Simon, Trambusti, Prenaut etc. che essa non è un organo permanente, ma un organo contingente in rapporto con la funzione di secrezione. Non può considerarsi come un artefatto (Schmitter) perchè, almeno agli animali da me esaminati, si presenta con caratteri molto netti i quali obligano ad ammettere che esso rappresenta un vero e proprio elemento della struttura delle cellule.

Cellule nervose.

Lo studio sullo sviluppo dei plastosomi nelle cellule nervose degli anfibi mi ha fornito un altro argomento in favore dell'ipotesi da me avanzata sui rapporti tra pigmento e plastosomi. Ho già detto come nella larva lunga mm. 5 si formi nella volta delle vescicole cerebrali una estroflessione, la quale, crescendo sempre più di volume, negli stadi successivi dello sviluppo è destinata a dare origine ad una formazione della volta. Le cellule che la costituiscono sono dapprima ricche di plastosomi: poi in mezzo ad i plastosomi, diminuiti di numero, appaiono granuli di pigmento i quali differiscono dai primi solo per il colore; e finalmente negli stadi più avanzati dello sviluppo i granuli di pigmento sono in tale quantità da rendere impossibile stabilire se in mezzo ad essi esistono anche granuli non pigmentati. È evidente che questi ultimi si sono trasformati nel corpo dello sviluppo in granuli pigmentati.

[1]) Recentemente Levi ha ammesso la esistenza di un vero orlo a spazzola nelle cellule del pronefro degli anfibi.

Nelle cellule germinative i plastosomi sono spesso addensati in un mucchio situato su di un lato della periferia del nucleo. Questa disposizione ricorda quella da me riscontrata nelle cellule dei canalicoli del pronefro e del mesonefro in via di sviluppo e nelle cellule pigmentate delle pelle: pare che appunto da questo mucchio derivino tutti i plastosomi che si riscontrano poi nelle cellule nervose adulte.

Questi nelle cellule germinative sono dapprima in forma granulare ed in seguito si allungano in brevi bastoncini i quali si estendono anche nei prolungamenti: alcuni però restano a forma di granuli. È difficile stabilire i rapporti tra queste formazioni granulo-bacillari e le neurofibrille. Ho studiato precedentemente[1]) i plastosomi nelle cellule nervose adulte ed anche là ho descritto delle formazioni granulo-bacillari disposte lungo il percorso delle neurofibrille. Ed aggiungevo nel lavoro citato: «È difficile stabilire se i condriosomi siano semplicemente addossati alle neurofibrille, o se invece essi formino parte della struttura delle neurofibrille stesse; le immagini da me ottenute mi fanno ritenere più verosimile quest' ultima ipotesi.»

Il problema è di una grande importanza e si connette a quell'altro riguardante la importanza dei plastosomi nella genesi delle neurofibrille. Meves nel 1908 emise l'opinione che nelle cellule nervose embrionali i plastosomi sono destinati a trasformarsi in neurofibrille. La stessa ipotesi e stata ammessa da Duesberg, il quale nel sistema nervoso di pollo ha ritrovato dei plastosomi fino al 4° giorno di incubazione; essi sono situati tanto nel corpo cellulare dei neuroblasti che nei prolungamenti; dopo il 5° giorno diminuiscono di numero e finiscono con lo scomparire dai prolungamenti, però nel corpo cellulare persistono fino ad un periodo molto inoltrato in forma di granuli e di piccoli filamenti, simili a quelli descritti da Sijövall e von Bergen.

Hoven, confrontando i risultati forniti dal metodo Benda con quelli dati dal metodo Cajal, ha concluso pure per una derivazione diretta delle neurofibrille dai plastosomi. Secondo questo A., nei neuroblasti midollari e nelle giovani cellule gangliari esistono plastoconti prima che appariscano neurofibrille. Questi condrioconti derivano dai condriosomi delle prime cellule embrionarie (Meves, Duesberg): più tardi i condrioconti prendono nelle cellule nervose una disposizione speciale, e cioè esse formano un reticolo di filamenti ondulati, assai serrati. Questa stessa disposizione assumono le neurofibrille nelle cellule nervose studiate col metodo del nitrato di argento. Più tardi, quando le neurofibrille sono

[1]) E. Luna, I condriosomi nelle cellule nervose adulte. Folia neurobiologica, Band VII, N. 6, 1913.

divenute più abbondanti, si trovano ancora condriomiti nelle cellule nervose, ma molto più scarsi: ed anche nella cellula adulta si hanno condriosomi in forma di granulazioni, di filamenti corti, spessi, orientati attorno al nucleo e situati tra le zolle di Nissl: la loro disposizione corrisponde a quella della rete endocellulare di Golgi, Kopsch ed alle figure di v. Bergen e Sijöwall. Così l'A. conclude: «Les condriosomes représentent donc, dans les cellules nerveuses, l'état primitif, indifférencié des neurofibrilles. A la suite d'une transformation des propriétés chimiques de leur substance et de leurs caractères morphologiques, les chondriosomes se transforment en neurofibrilles.»

Contro l'opinione di Meves è invece Held il quale così scrive: «Ich also die von Meves in der letzten Arbeit auf den Figuren 31, 35 und 36 dargestellten Fadenstrukturen neuroblastischer Zellen nicht fur die Stadien einer präfibrillären Entwicklung der spezifischen Neuroblastenstruktur halten kann.» Ed anche Levi non trova giustificata l'ipotesi di Meves, Duesberg, Hoven. La persistenza dei condriosomi in grandissimo numero, anche quando nel protoplasma dei neuroblasti sono apprezzabili con altri metodi delle neurofibrille, circostanza questa ammessa anche dagli Aa. sopraricordati, è, secondo Levi, in palese contrasto con l'ipotesi di Meves. «Un altro argomento contro la trasformazione dei condriosomi in neurofibrille sta nel fatto del non essere i primi mai tra loro anastomizzati, inoltre nel non essere limitati ad una zona fibrillogena particolare come le neurofibrille, bensì di essere estesi a tutto il citoplasma.» L'esistenza di una zona fibrillogena fu dimostrata da Held col metodo Cajal in embrioni di anitra e da Levi confermata in elementi gangliari di embrioni di trota. Così Levi: «Io concludo dunque che i condriosomi persistono lungo tempo dopo la comparsa delle neurofibrille e che essi occupano gli interstizi fra le neurofibrille; nel corpo cellulare del neuroblasta, ove queste formano un reticolo, e perciò i condriosomi risiedono nelle sue maglie, essi appaiono intrecciati in maniera complicata, nei cilindrassi invece, ove le neurofibrille sono parallele, sono allineati in serie regolari.»

Quanto all' esistenza di plastosomi nelle cellule nervose adulte, Levi non ha elementi per fornire alcun giudizio; comunque egli esclude la supposizione di Meves e di Hoven che cioè i plastosomi nelle cellule gangliari adulte siano rappresentati dall'apparato reticolare interno. Per quanto riguarda i rapporti tra formazioni plastosomiche ed apparato reticolare di Golgi, Busacca è venuto alle stesse conclusione di Levi studiando le cellule nervose di *Torpedo*, ed anch'io, studiando le cellule nervose di anfibì e i mammiferi, ho potuto pienamente confermarle.

Come risulta dalla esposizione bibliografica, il problema dei rapporti tra plastosomi e fibrillogenesi è ancora molto lontana dalla soluzione definitiva.

Le mie ricerche sullo sviluppo dei plastosomi negli anfibi non mi permettono di intervenire nella discussione tuttora aperta, appunto perchè non mi è stato possibile studiare la fibrillogenesi nelle cellule nervose di *Bufo* e d'altro lato non ho potuto utilizzare conoscenze già acquiste, perchè tale studio negli anfibi non è stato, per quanto io sappia, ancora fatto, a causa delle difficoltà di tecnica. Ciò non pertanto qualche dato mi è stato possibile ricavare dai numerosi preparati, e credo utile riferirne come modesto contributo ad un problema così difficile ed importante.

Come ho dimostrato in una nota precedente[1]), le cellule nervose adulte degli anfibi contengono plastosomi in forma di brevi bastoncini e di serie di granuli situati lungo il decorso delle neurofibrille. D'altro lato, studiando lo sviluppo di tali cellule, ho riscontrato che esse dapprima contengono plastocondri ed in seguito plastoconti i quali si dispongono sin dall'inizio secondo la lunghezza delle neurofibrille. Questi fatti dimostrano che negli anfibi i plastosomi delle cellule nervose restano per tutta la vita, conservando in linea generale i caratteri morfologici e la disposizione che avevano sin da principio, cioè sin da quando avevano incominciato ad assumere la forma bacillare.

Ora per potere stabilire l'importanza dei plastosomi nella fibrillogenesi è necessario conoscere in che rapporti stanno nelle cellule nervose adulte i plastosomi con le neurofibrille. Due sono le possibilità: o i plastosomi sono addossati alle neurofibrille, oppure fanno parte della costituzione intima delle neurofibrille stesse rappresentandone la parte cromofila. La soluzione di questo problema è molto difficile. Nel lavoro già citato io non ho voluto pronunziarmi in favore dell'una o dell'altra ipotesi, ed anche oggi, pur essendo più proclive ad ammettere che realmente i plastosomi fanno parte intima della struttura delle neurofibrille appunto per la regolarità e la costanza dei loro rapporti, nonpertanto riconosco che non possiamo ancora emettere un giudizio sicuro.

Nella prima ipotesi, cioè ammettendo che i plastosomi siano formazioni semplicemente addossate alle neurofibrille, si deve pensare in base alle mie ricerche soprariferite che i plastosomi non si trasformino in neurofibrille. perchè si tratterebbe di due formazioni indipendenti l'una dell'altra e solamente vincolate da rapporti di vicinanza.

Se invece ammettiamo com'è più probabile, che i plastosomi fanno parte intima delle fibrille, allora dobbiamo pensare che essi, durante lo

---

[1]) E. Luna. Loc. citato. p. 615.

sviluppo embrionale prendono parte alla formazione delle neurofibrille, fornendo ad esse la parte cromofila. Comunque è certo (ed in questo sono d'accordo con Levi) che i plastosomi delle cellule embrionali non possono identificarsi, come vogliono alcuni, con le neurofibrille, perchè non hanno mai la forma di reticolo ma quella di elementi staccati, nè si può dire (come Meves, Hoven, Duesberg) che essi sono destinati a trasformarsi in toto in neurofibrille, perchè se rapporti tra queste due formazioni esistono, essi consistono in ciò che i plastosomi forniscono alle neurofibrille l'elemento cromofilo, destinato a restare come tale per tutta la vita.

Cellule pancreatiche.

Le cellule pancreatiche hanno fornito agli studiosi il più abbondante ed adatto materiale per lo studio delle numerose quistioni che si connettono al problema dei plastosomi. La bibliografia sull'argomento è quindi vastissima. Io mi limiterò a riferire solamente quei dati che possono avere attinenza con i risultati delle mie ricerche.

I filamenti plastosomiali nelle cellule pancreatiche sono stati descritti da Altmann, Laguesse, Schultze, Champy, Hoven, Arnold, Mislawsky, Levi etc. Per la maggior parte degli Autori questi filamenti sono variabili ed in rapporto con la fase del processo di secrezione. Ricordo fra l'altro Hoven il quale nelle cellule pancreatiche ha trovato condriosomi moniliformi e condrioconti con un rigonfiamento alla loro estremità o nel loro percorso. Nello stadio di addensamento massimo dei prodotti di secrezione alcuni condrioconti si sono trasformati in catenelle di piccoli granuli (plastes di Prenant): questi plastes continuano a colorarsi intensamente con i metodi di colorazione dei mitocondri, mentre il filamento mitocondriale che li unisce diviene sempre meno colorabile. Alcuni condriosomi si frammentano in bastoncini più corti. Queste ed altre immagini sono state viste da Hoven, il quale viene alla conclusione, condivisa da molti altri Autori, che i granuli di secrezione derivano dai filamenti mitocondriali.

Mislawsky recentemente ha notato che le modificazioni dei condrioconti in rapporto con le variazioni quantitative dei granuli di zimogeno non sono apprezzabili nelle cellule pancreatiche.

Levi non ha trovato nelle cellule pancreatiche di *Geotriton* differenze sensibili nel numero, nella distribuzione o nella costituzione dei condrioconti tra le cellule a riposo e quelle attivamente funzionanti. Lo stesso A. non ha mai osservato in *Geotriton*, neppure dopo somministrazioni ripetute di pilocarpina, nè uno spezzattamento di condrioconti, nè un aspetto moniliforme di questi, «nulla infine che desse adito al dubbio che i filamenti si disgregassero in granuli di zimogeno: nei preparati ben fissati

questi erano sempre lisci e di spessore uniforme e sempre indipendenti dai granuli.» Levi ha inoltre trovato che in larve di *Triton* di 10—15 mm. di lunghezza, la disposizione dei condrioconti è nelle cellule degli acini pancreatici, anche prima che si inizi il fenomeno secretorio, molto simile a quella dell'adulto.

I risultati da me ottenuti sono stati i seguenti.

Nelle prime fasi di sviluppo del pancreas ho notato la presenza di cellule contenenti plastosomi filamentosi e granulari; una di tali cellule è riprodotta nella fig. 47. Esaminando tali cellule è difficile potere con esattezza stabilire se i granuli di zimogeno provengono dai plastosomi: si vedono verso l'apice granuli plastosomiali disposti a corona di rosario, ma non si hanno elementi per affermare che essi risultino dalla disgregazione dei plastoconti.

Nelle cellule pancreatiche di una larva lunga mm. 30 ho notato la presenza di filamenti, che ad un estremo erano rigonfiati ad anello, ed anche di anelli liberi. In tali casi si potrebbe pensare ad una trasformazione dei plastoconti in anelli, che sarebbero il nucleo di un grano di secrezione: ma d'altro lato bisogna pensare che le cellule contenenti tali anelli sono molto rare e scarsi sono gli anelli contenuti in una sola cellula di fronte al grande numero dei granuli di zimogeno: e poi generalmente le formazioni ad anello si trovano solo verso la parte prossimale della cellula e non si hanno gradi di passaggio tra anelli e granuli di secreto. In molte cellule il primo accenno della formazione del zimogeno è dato da minutissimi granuli situati in mezzo ai grossi granuli di zimogeno della zona distale: in tal caso si può pensare che i piccoli granuli provengano pure da disgregazione dei filamenti che, come Levi ha dimostrato ed io ho potuto confermare, si spingono fin nella zona apicale della cellula: ma è impossibile dare la prova di tale processo di frammentazione dei plastoconti.

Sicchè, pur non escludendo che il processo di secrezione si possa, nelle cellule pancreatiche, svolgere così come è ammesso dalla scuola francese, anche perchè le ricerche puramente istogenetiche non si prestono per tali indagini, d'altro lato non ho elementi sufficienti per affermare che i plastosomi intervengano direttamente nel processo di secrezione. La maggior parte degli Autori (Champy, Hoven, Levi etc.) ammettono che i plastoconti sono indipendenti l'uno dall'altro: Mislawsky invece ha recentemente osservato la loro anastomosi. Secondo questo A. i plastoconti delle cellule pancreatiche nel coniglio formano una rete sviluppata secondo le tre direzioni. Anch'io ho riscontrato nelle cellule pancreatiche di una larva lunga mm. 30 l'anastomosi dei plastosomi filamentosi (fig. 48):

è assolutamente da escludere che si tratti di una semplice sovrapposizione dei plastoconti. In alcune cellule la rete è molto complicata, in altre è molto semplice; in molte finalmente i plastoconti sono indipendenti l'uno dall'altro.

Pelle, coroide, organi adesivi e denti cornei.

Difficile è seguire le modificazioni alle quali vanno incontro i plastosomi nelle cellule epidermoidali di *Bufo vulgaris.* Mi sono interessato di studiare quelle formazioni filamentose descritte da Eberth, Bataillon, Gaupp, Duesberg. Quest'ultimo Autore sostiene che essi provengono dai plastosomi delle cellule embrionali: io però non ho potuto esattamente stabilire quali rapporti intercedono tra i plastosomi e le formazioni filamentose anzidette.

Le cellule pigmentate epidermoidali e sottoepidermoidali contengono dapprima plastocondri i quali in seguito si trasformano in pigmento. Questo reperto, ben evidente anche nelle cellule coroidee, conferma quanto io ho sostenuto e cioè che le formazioni pigmentate sono sempre derivate da plastosomi. Rimando per la bibliografia ai lavori più volte citati.

L'organo adesivo (Sauggruben) delle larve di anfibi è costituito da cellule epiteliali allungate con funzione secretoria: il secreto è rappresentato da uno zaffo mucoso situato alla parte distale della cellula. Le cellule contengono una grande quantità di plastosomi, ma non ho mai potuto notare che essi piglino parte al processo di secrezione.

Nei denti cornei delle larve di *Bufo* si riscontra che le cellule epiteliali situate più in basso presentano plastosomi granulari: man mano che si procede più in alto i granuli si trasformano in filamenti. L'inizio del processo di corneificazione è accompagnato da notevole diminuzione del numero dei plastosomi: a corneificazione completa questi mancano del tutto. Esistono probabilmente dei rapporti tra i filamenti del corpo cellulare ed il processo di cheratinizzazione dell'elemento cellulare stesso: ma è impossibile precisare la natura di tali rapporti.

Fibre muscolari liscie.

Benda ha descritto la presenza di plastocondri e plastoconti nelle fibrocellule muscolari dei vasi, dell'epididimo etc.: essi sono situati tra le fibrille e specialmente in vicinanza del nucleo. Duesberg ha accennato alla esistenza di plastosomi nelle cellule muscolari dell'intestino di cane, e Meves li ha anche descritti nell'intestino embrionale.

Anch'io ho riscontrato nelle fibre muscolari liscie dell'intestino di larve di *Bufo* abbondanti plastosomi in forma di granuli e di filamenti.

Nell'individuo adulto i filamenti scompaiono e restano i plastocondri situati ai due poli del nucleo. Non sono state seguite attentamente le modificazioni alle quali i plastosomi vanno incontro nel corso dello sviluppo, ma è probabile (ed in ciò sono di accordo con Duesberg) che essi siano destinati a trasformarsi nelle fibrille longitudinali che sono state descritte nelle fibrocellule muscolari, analogamente a quanto avviene nelle fibre muscolari striate.

Quanto ai plastocondri che nelle fibrocellule adulte si riscontrano ai due poli del nucleo, essi rappresentano forse un materiale di riserva, così come da me è stato ammesso per le fibre striate.

L'ipotesi che sul significato biologico dei plastosomi raccoglie ancora oggi il maggior consenso degli istologi è senza dubbio quella di Benda-Meves-Duesberg. Tale ipotesi si può così riassumere. I plastosomi rappresentano organuli cellulari i quali sono trasmessi alle cellule dell'organismo dall'ovo e dallo spermio; essi hanno una parte importantissima nella trasmissione dei caratteri ereditari ed inoltre rappresentano un materiale indifferenziato, un substrato, dal quale si differenziano durante lo sviluppo ontogenetico diverse formazioni, come fibrille collagene, fibrille muscolari, neurofibrille. La prima parte di questa ipotesi include il concetto che i plastosomi sono particelle viventi che non si formano ex novo nell'elemento cellulare, ma provengono da particelle della stessa natura che attraverso ad una lunga serie di generazioni cellulari si possono sempre ricondurre all'ovo ed allo spermio. E questo concetto è espresso sinteticamente nell'aforisma ben noto di Duesberg «omne mitochondrium e mitochondrio».

Io non riferirò gli argomenti sui quali questa ipotesi è fondata, nè discuterò la loro validità ed il rigore delle conclusioni alle quali son venuti gli Aa. che si sono interessati dell'argomento.

È certo però che questo merita ancora altri studi dal momento che la teoria mitocondriale, che pur così validamente è sostenuta, ha nondimeno dei forti oppositori. Questi ultimi si possono dividere, secondo Duesberg, in tre categorie: gli scettici, i sostenitori della teoria cromidiale, e quelli che considerano i plastosomi non come organuli cellulari specifici, tramandati da una generazione all'altra, ma come prodotti di differenziazione

del citoplasma. Ed anche RUBASKIN, a proposito dei plastosomi delle cellule dell'embrione, così scrive: «Es ist zweifellos, daß die ersten Chondriosomen direkt aus dem Ei und der Spermie stammen: es ist aber auch über alle Zweifel erhaben, daß die Zahl der Chondriosomen während der Entwickelung, d. h. während der Bildung von neuen Zellen, sich bedeutend vermehrt. Auf wessen Kosten entstehen diese neuen Chondriosomen? Entstammen sie dem Kerne oder entstehen sie durch eine besondere Tätigkeit des Protoplasmas, oder können sich die ersten Chondriosomen, welche im befruchteten Ei schon vorhanden sind, selbständig teilen und auf diese Weise fortpflanzen — das sind alles ganz dunkle Fragen.»

Per quanto riguarda le mie ricerche, io ho potuto notare che anche quando l'oocite è ricco in granuli di pigmento ed in dischi di vitello, dovuti alle trasformazione dei plastosomi, resta sempre nell'oocite stesso una certa quantità di plastosomi non modificati; questi ultimi potrebbero rappresentare la matrice dei plastosomi che si trovano poi nelle cellule dell'embrione. Il concetto della trasmissione dei plastosomi dall'ovo agli elementi cellulari dell'embrione è quindi in accordo con i risultati delle mie ricerche. Ma nella espressione di un giudizio sull'ipotesi riguardante la trasmissione dei plastosomi da cellula a cellula, io non posso d'altro lato non tener presente quanto è stato da me osservato nell'epitelio pigmentato dell'embrione di pollo. Qui ho potuto notare che dal 8° al 16° giorno di incubazione le cellule sono sprovviste di plastosomi, impiegati, nei giorni precedenti, nelle formazione della fuscina. Al 17° giorno riappaiono i plastosomi come piccoli granuli. Tale reperto mi ha spinto ad ammettere, sia pure con ogni riserva, che «in un elemento cellulare privo di condriosomi si può avere la formazione ex novo di un apparato mitocondriale». D'altro lato nello stesso epitelio pigmentato, appartenente però ad un individuo adulto, ho potuto riscontrare un vero e proprio processo di divisione dei plastosomi. Molto complesso, come è facile comprendere, è l'argomento che noi studiamo, ed io ritengo quindi che nuove ricerche si impongano ancora per stabilire in modo più preciso il valore dell'ipotesi sulla trasmissione dei plastosomi da cellula a cellula.

Per quanto riguarda poi la seconda parte della teoria mitocondriale, e cioè quella riguardante l'intervento dei plastosomi nei processi di differenziazione cellulare, le opinioni non sono neppure concordi. Di fronte alle conclusioni affermative di BENDA, MEVES, DUESBERG, FIRKET, HOVEN, LUNA etc. si hanno le critiche di osservatori come HEIDENHAIN,

Held, Levi che escludono ogni partecipazione diretta dei plastosomi nella formazione delle strutture cellulari. Le mie ricerche sullo sviluppo degli anfibi mi autorizzano ad ammettere che i plastosomi sono organuli cellulari i quali nel corpo dello sviluppo ontogenetico subiscono trasformazioni varie in rapporto con l'elemento cellulare al quale essi appartengono, e più precisamente danno origine a quelle formazioni che sono specifiche per le singole cellule. È per questo che trovo molto appropriato il nome di plastosomi dato da Meves agli organuli anzidetti.

Ho già dimostrato in lavori precedenti che i plastosomi dei mioblasti si trasformano in miofibrille, mentre quelli dell'epitelio pigmentato della retina si trasformano in fucsina. In base alle ricerche riferite nelle pagine precedenti, io son portato ad ammettere che i plastosomi dell'oocite si trasformano in gocce di vitello ed in granuli di pigmento. Anche nelle cellule embrionali dei vari tessuti e nelle cellule coroidee e nelle cellule pigmentate della cute si ha una trasformazione dei plastosomi in pigmento. Nelle cellule renali i plastosomi embrionali si trasformano nei bastoncini di Heidenhain.

Difficile è stabilire, per le ragioni anzidette (pag. 617), quali rapporti intercedono tra plastosomi e neurofibrille: è probabile però che i primi nelle cellule nervose, disponendosi in serie regolari, vengano a costituire una parte delle neurofibrille stesse e cioè quella che si colora intensamente con l'ematossilina ferrica (tratti cromofili). Anche nelle fibre muscolari liscie avviene con ogni probabilità la trasformazione dei plastoconti in quelle strutture fibrillari che sono state in tali cellule descritte da alcuni autori.

Quanto poi all'intervento dei plastosomi nei processi di secrezione, le mie ricerche mi autorizzano ad affermare che realmente nelle cellule che tappezzano i canalicoli urinari il processo di secrezione è intimamente legato ad una trasformazione dei plastosomi: non ho però potuto convincermi se in altre cellule glandolari il processo di secrezione avviene con lo stesso meccanismo osservato nelle cellule del pronefro e del mesonefro degli anfibi.

Maggio 1913.

Bibliografia.

1. Altmann. Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen. Leipzig. 1894.
2. Arnold. The role of the condriosomes in the cells of the guineapig's pancreas. Arch. f. Zellforsch. Bd. VIII. 1912.
3. Benda. Die Mitochondria. Ergebnisse der Anat. u. Entwickl. Bd. XII. 1903.
4. —— Weitere Mitteilungen über die Mitochondria. Verh. d. Phys. Ges. Berlin 1899.
5. —— Die Mitochondria des Nierenepithels. Verh. d. anat. Ges. Heidelberg 1903.
6. Bluntschli. Beobachtungen am Ovarialei der Monaschidie Cyntia microcosmus. Morph. Jahrb. 1904.
7. Bataillon. Recherches anatomiques et expérimentales sur la métamorphose des Amphibiens Anoures. Thèse de Paris. 1891.
8. Busacca. L'apparato mitocondriale nelle cellule nervose adulte. Anat. Anzeiger. Bd. XLII. Hft. 24. 1912.
9. —— Sulla fine struttura della coroide. Ricerche fatte nel Laboratorio di Anat. normale de la R. Univ. di Roma etc. 1912.
10. Ciaccio. Contributo alla distribuzione ed alla fisiopatologia dei lipoidi. Arch. f. Zellforsch. 1910.
11. —— e Scaglione. Beitrag zur cellulären Physiopathologie der Plexus chorioidei. Beiträge zur pathologischen Anatomie. Bd. LV. 1913.
12. Cesa-Bianchi. Centributo alla conoscenza dell'anatomia e delle fisiopatologia renale. Internat. Monat. f. Anat. u. Phys. Bd. XXVII. 1910.
13. Champy. Recherches sur l'absorption intestinale et le rôle des mitochondries dans l'absorption et la sécrétion. Arch. d'Anat. micr. T. XIII. 1911.
14. Duesberg. Nouvelles recherches sur l'appareil mitochondrial des cellules séminales. Arch. f. Zellforsch. Bd. VI. 1910.
15. —— Sur la continuité des éléments mitochondriaux des cellules sexuelles et des chondriosomes des cellules embryonnaires. Anat. Anzeiger. Bd. XXXV. 1910.
16. —— Les chondriosomes des cellules embryonnaires du Poulet et leur rôle dans la génèse des myofibrilles, avec quelques observations sur le développement des fibres musculaires striées. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV. 1910.
17. —— Plastosomen, Apparato reticolare interno und Chromidialapparat. Ergebnisse der Anatomie und Entwickl. Bd. XX. 1912.
18. D'Agata. Sulla genesi del grasso e sulle modificazioni dell'apparato mitocondriale nell'intossicazione difterica. Internat. Monatsschrift f. Anat. u. Phys. Bd. XXIX. Hft. 7/9. 1912.
19. Eberth. Zur Entwickl. der Gewebe im Schwanze der Froschlarve. Arch. f. mikr. Anat. 1866.
20. Firket. Recherches sur la génèse des fibrilles épidermiques chez le Poulet. Anat. Anzeiger. Bd. XXXVIII. 1911.
21. Gurwitsch. Die Hauptströmungen in der Cytologie des verflossenen Jahrzehnts. Biol. Zeitschr. Bd. I. 1910. (Citato da Duesberg.)
22. Goldschmidt. Das Skelet der Muskelzelle von Ascaris, nebst Bemerkungen über den Chromidialapparat der Metazoenzelle. Arch. f. Zellforsch. Bd. IV. 1909.

23. Gaupp. Anatomie des Frosches (Ecker u. Wiedersheim). 1896.
24. Galeotti. Über die Granulationen in den Zellen. Internationale Monatsschrift f. Anatomie u. Physiologie. Bd. XII. 1895.
25. Hertwig. Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung bei Actinosphaerium eichhorni. Abh. bayr. Akad. Wiss. 1898.
26. —— Die Protozoen und die Zelltheorie. Arch. Protistenkunde. 1902.
27. Held. Die Entwicklung des Nervengewebes bei den Wirbeltieren. Leipzig 1909.
28. Hoven. Sur l'histogenèse du système nerveux périphérique chez le Poulet et sur le rôle des chondriosomes dans la neurofibrillation. Arch. de Biologie. T. XXV. 1910.
29. —— Contribution à l'étude du fonctionnement des cellules glandulaires. Du rôle du chondriome dans la sécrétion. Anat. Anzeiger. Bd. XXXVII. 1910.
30. Kolster. Mitochondria und Secretion in den Tubuli contorti der Niere. Beitr. Pathol. Anat. Bd. LI. Hft. 2. 1911.
31. Lams. Contribution à l'étude de la génèse du vitellus dans l'ovule des Téléostéens. Arch. d'Anat. micr. T. VI. 1904.
32. —— Le corps vitellin de Balbiani et la masse vitellogène dans l'oocyte de Rana temporaria. Verh. anat. Ges. 1906.
33. —— Contribution à l'étude de la génèse du vitellus dans l'ovule des Amphibiens. Arch. d'anat. micr. T. IX. 1907.
34. Levi. I gangli cerebro-spinali. Studi di istologia comparata e di istogenesi. Suppl. al vol. VII dell'Arch. ital. di Anat. e di Embriol. 1908.
35. —— Sulla presunta partecipazione dei condriosomi alla differenziazione cellulare. Arch. di Anat. e di Embriologia. Vol. X. Fasc. 1. 1911.
36. —— I condriosomi nell'oocite degli Anfibi. Mon. Zool. ital. T. XXIII. 1912.
37. —— I condriosomi dei gonociti. Mon. Zool. ital. Nr. 5. 1912.
38. —— I condriosomi nelle cellule secernenti. Anat. Anzeiger. Nr. 22—23. Bd. XLII. 1912.
39. Loyez. Les premiers stades de la vitellogénèse chez quelques Tuniciers. C. R. Assoc. des Anatomistes. 1909. Nancy.
40. —— Sur la structure de l'oocyte de la femme à la période d'accroissement. C. R. Assoc. des Anatomistes. Paris 1911.
41. Laguesse. Ergastoplasme et chondriome dans les cellules sécrétantes séreuses. Bibl. anat. T. XXI. 1911.
42. Luna. L'apparato mitocondriale delle cellule dell'epitelio pigmentato della retina. Arch. di Anat. patol. e Sc. affini. 1911.
43. —— L'apparato mitocondriale nelle cellule dell'epitelio pigmentato della retina. Arch. f. Zellforsch. Bd. IX. Hft. 1. 1912.
44. —— Sulla importanza dei condriosomi nella genesi delle miofibrille. Arch. f. Zellforsch. Bd. IX. H. 3. 1913.
45. —— Ricerche sulla biologia dei condriosomi. Arch. f. Zellforsch. Bd. X. H. 3. 1913.
46. —— Nuove ricerche sulla biologia del condrioma (condriosomi e pigmento retinico). Anat. Anzeiger. Bd. XLIII. 1913.
47. —— I condriosomi nelle cellule nervose adulte. Folia neurobiologica. 1913.
48. —— Lo sviluppo dei plastosomi negli anfibi. An. Anz. Bd. XXXXV. 1913.
49. —— Sui fenomeni di plastorexi e di plastolisi riscontrabili nel processo di involuzione del pronefro degli anfibi. Mon. Zool. ital. Anno XXIV. N. 6. 1913.

50. Meves. Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen. Cytologische Studien am Hühnerembryo. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXV. 1908.

51. —— Über Strukturen in den Zellen des embryonalen Stützgewebes usw. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXV. 1910.

52. Mislawsky. Demonstration von Chondriosomen in Pancreaszellen. Verh. Anat. Ges. Leipzig 1911.

53. —— Beiträge zur Morphologie der Drüsenzelle. Annt.. Anzeiger. Bd. XXXIX. 1911.

54. Noetzel. Die Rückbildung der Gewebe im Schwanze der Froschlarve. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLV. 1895.

55. Prenant et Antonion. Modifications produites dans les cellules épithéliales du rein etc. C. R. Assoc. des Anatomistes. Lille 1907.

56. Policard. Sur les formations mitochondriales du rein des Vertébrés. C. R. Soc. biol. 1905.

57. —— Contribution à l'étude du mécanisme de la fonction urinaire etc. Arch. d'anat. micr. T. XII. 1910.

58. Rubaskin. Chondriosomen und Differenzierungsprozesse bei Säugetierembryonen. Anat. Hefte. Bd. XLI. 1910.

59. Russo. Sulla origine e sulla funzione dell'apparato mitocondriale nelle cellule sessuali dei mammiferi. Accademia Gioenia di Sc. Naturali. Catania. Fasc. 2. Serie 2. 1908.

60. —— Aumento dei granuli protoplasmatici nell'oocite della coniglia iniettate con lecitina etc. Arch. f. Zellforsch. Bd. VIII. Hft. 2. 1912.

61. Retzius. Über den Bau des Eies der Echinodermen im unbefruchteten und befruchteten Zustand. Biol. Untersuch. Nr. 7. Bd. XV. 1910.

62. —— Untersuchungen an Eiern von verschiedenen Wirbellosen und Wirbeltieren. Biol. Unters. Nr. 7. Bd. XVI. 1911.

63. Ruffini. Appunti di citologia intorno agli elementi ectodermici della gastrula negli anfibi urodeli. Nota 3. Atti della R. Accademia dei Fisiocritici in Siena. 1907.

64. Romeis. Beobachtungen über Degenerationserscheinungen von Chondriosomen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXX. Hft. 4. 1912.

65. Regaud. Variation des formations mitochondriales dans les tubes à cuticule striée du rein. C. R. Soc. biol. 1908.

66. —— Participation du chondriome à la formation des grains de ségrégation dans les cellules des tubes contournés du rein (chez les ophidiens et les amphibiens). C. R. Soc. biol. 1909.

67. Schmidt. Studien über Ovogenese. 1. Die Wachstumsperiode der Eier von Proteus anguineus. Anat. Hefte. Hft. 81. 1905.

68. Schultze. Über die Genese der Granula in den Drüsenzellen. Anat. Anz. Bd. XXXVIII. 1911.

69. Simon. Contribution à l'étude de la sécrétion rénale. C. R. Soc. biol. de Paris. 1908.

70. Schmitter. Cytological changes in the Kidney due to distilled water, etc. Anat. Anzeiger. 1905.

71. Trambusti. Il meccanismo di secrezione e di escrezione della cellula renale. Accad. Sc. mediche e natur. Ferrara 1898.

72. Takaki. Über die Stäbchenstrukturen der Niere. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXX. 1907.
73. Veidovsky. Neue Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung. Kön. Böhm. Ges. der Wiss. Prag 1907.
74. van Bambeke. Contribution à l'histoire de la constitution de l'œuf. Arch. de Biologie. 1897.
75. Van der Stricht, O. La structure de l'œuf des mammifères. 1. Partie. Arch. de biologie. 1904.
76. —— Id. 2. Partie. Bull. de l'acad. Royale de Médecine de Belgique. 1905.
77. —— Id. 3. Partie. Mémoires publ. par la Classe sc. Acad. Royale de Belgique. 1909.
78. Wagner. Die Herkunft des Eipigmentes der Amphibien. Zool. Anzeiger. Bd. XXXV. Nr. 17. 1910.
79. Zoia, L. e R. Intorno ai plastiduli fucsinofili (bioblasti di Altmann). Mem. del R. Istit. Lomb. di scienze e lett. Vol. XVI. 1891.

Spiegazione delle figure.

Tutte le figure sono state disegnate con la camera chiara da preparati di *Bufo vulgaris* trattati col metodo Regaud.

Tavole XXIX—XXX.

Fig. 1. Giovane oocite. Oc. 4, Ob. 4.

Fig. 2. Dettaglio della fig. 1. Oc. 6 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 3. Segmento di un oocite in uno stadio di sviluppo più avanzato di quello riprodotto nelle fig. 1 e 2. Oc. 6 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 4. Segmento di un oocite in uno stadio di sviluppo più avanzato di quello riprodotto nella fig. 3. Oc. 6 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 5. Una cellula risultante dalle prime divisioni dell'ovo. Oc. 2, Ob. 4.

Fig. 6. Nucleo e protopl. perinucleare di una cellula proveniente dalle prime divisioni dell'ovo e depigmentata. Oc. 6 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 7. Tre cellule dell'ectoderma. Larva lunga mm. 3: le due cellule di destra sono depigmentate. Oc. 8 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 8. Cellule dell'organo adesivo. Larva lunga mm. 8. Oc. 6 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 9. Una cellula del mesoderma depigmentata. Larva lunga mm. 5. Oc. 8, Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 10. Due cellule del pronefro di larva lunga mm. 5. Oc. 8 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

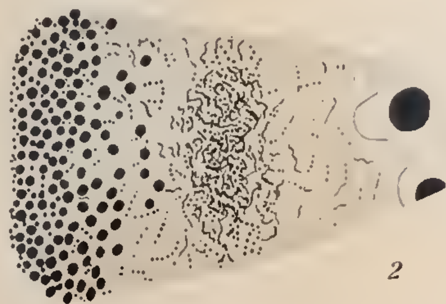
Fig. 11. Una cellula del pronefro di larva lunga mm. 5. Oc. 8 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

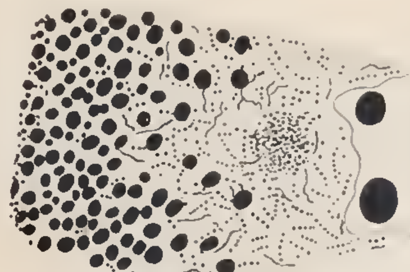
Fig. 12. Una cellula del pronefro di larva lunga mm. 5 (non depigmentata). Oc. 6 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

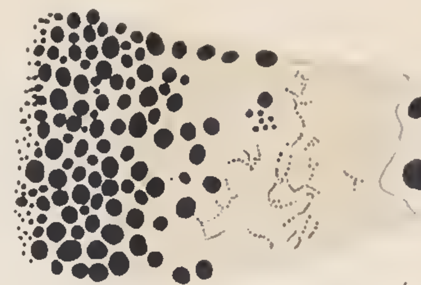
Fig. 13. Due cellule del pronefro di larva lunga mm. 8. Oc. 6 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

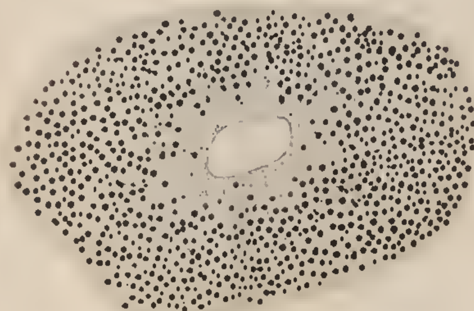
Fig. 14. Una cellula del canale di Wolff: larva lunga mm. 10. Oc. 6 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

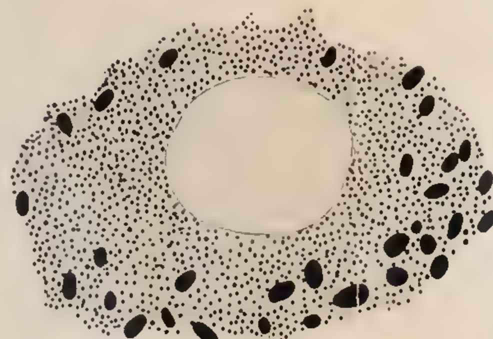

1.

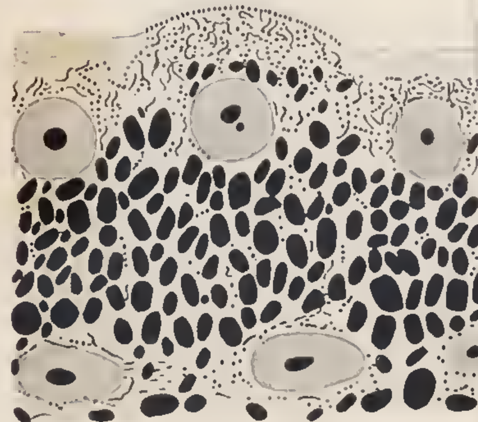

2

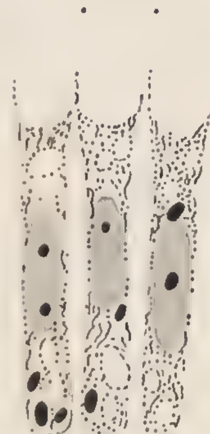

3.

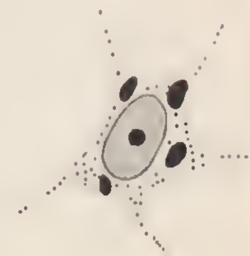

4


5.


6.


7.


8


9

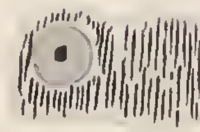

10.


11.


12.

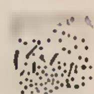

13.


14


15


16.


17.


18


19.


20.


21.

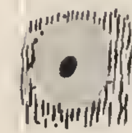

22


23.

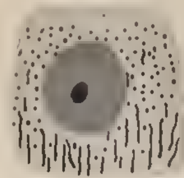

24.

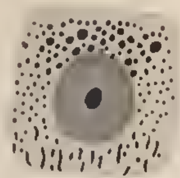

35.

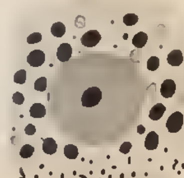

25.


26

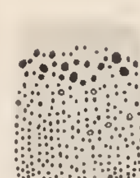

27.


28.


29.


30.

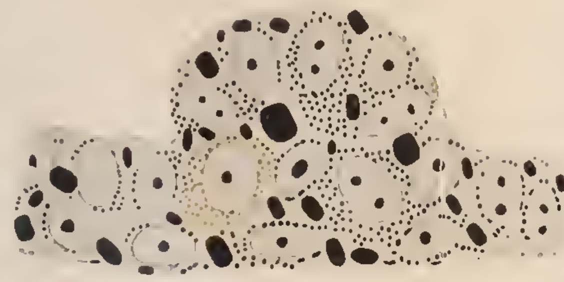

31.


32

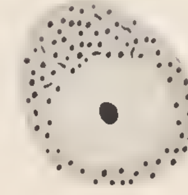

33


34

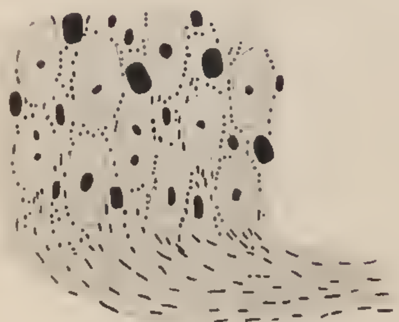

36.


39.

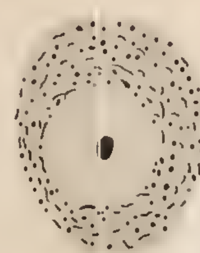

42.


43.


44


38.


40.


46.


50.

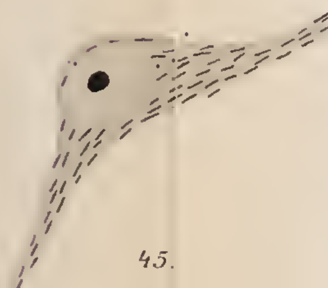

49.


47.


37.



41.


45.


52


51.


48.

Luna gez. Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Fig. 15. Una cellula del pronefro di larva lunga mm. 10. Oc. 6 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 16—24. Cellule del pronefro: larva lunga mm. 17. Oc. 4 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 25—26. Cellule del mesonefro di larva lunga mm. 19. Oc. 4 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 27. Una cellule del mesonefro di larva lunga mm. 22. Oc. 4 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 28—30. Cellule del pronefro di larva lunga mm. 30. Oc. 4 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 31—35. Cellule del mesonefro di giovani bufi e bufi adulti. Oc. 4 comp., Ob. 1/12. imm. omog.

Fig. 36. Cellule germinative del sistema nervoso di larva lunga mm. 4. Oc. 6 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 37. Cellula germinativa in via di divisione. Larva lunga mm. 5. Oc. 12 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 38. Neuroblasti di larva lunga mm. 5. Oc. 4, Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 39. Estroflessione della volta delle vescicole cerebrali. Larva lunga mm. 5. Oc. 3., Ob. 7 (dettagli a forte ingrandimento).

Fig. 40. Cellula nervosa giovanile. Larva lunga mm. 7. Oc. 6 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 41. Cellule dei gangli spinali. Larva lunga mm. 8. Oc. 6 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 42. Neuroblasti di larva lunga mm. 8. Oc. 4, Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 43. Cellule dei gangli spinali. Larva lunga mm. 17. Oc. 6 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 44. Cellula nervosa. Larva lunga mm. 17. Oc. 8 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 45. Cellula nervosa giovanile. Bulbo di larva lunga mm. 30. Oc. 6 comp.. Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 46. Cellula dei gangli spinali. Larva lunga mm. 30. Oc. 6 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 47. Cellula pancreatica. Larva lunga mm. 17. Oc. 6 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 48. Cellula pancreatica. Larva lunga mm. 30. Oc. 8 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 49. Cellule pigmentate sottoepidermoidali. Larva lunga mm. 17. Oc. 4 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 50. Dente corneo. Larva lunga mm. 17. Oc. 2, Ob. 7 (dettagli a forte ingrandimento).

Fig. 51. Fibro-cellule muscolari in via di sviluppo. Larva lunga mm. 30. Oc. 4 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Fig. 52. Idem in sezione trasversale. Oc. 4 comp., Ob. 1/12 imm. omog.

Referate.

K. Nägler. Die Kern- und Centriolteilung bei Amöben. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXVI. S. 435—442.

Verf. wendet sich gegen Gläsers Kritik der Centriolenbefunde bei Protozoen (Arch. f. Protistenk. Bd. XXV). Er hält seine früheren, von Gläser angezweifelten Angaben in vollem Umfange aufrecht und konnte auch bei einer neuen Amöbe aus dem Schweinedarm mit aller Deutlichkeit ein Centriol im Karyosom feststellen. Abkugelung der Amöben bei der Kernteilung ist entgegen der Ansicht Gläsers sicher keine allgemein gültige Erscheinung.

V. Jollos (München).

Bonnet, J. Le sens du mot Synkaryon. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXVII. S. 16—18.

Bonnet weist darauf hin, daß der Ausdruck »Synkaryon« in doppeltem Sinne gebraucht wird, einmal für den aus der Verschmelzung zweier Gametenkerne hervorgegangenen Kopulations(»Frisch«)-kern, sodann auch für die konjugierten Kernpaare bei Ascomyceten, Basidiomyceten u. a. Für die letzteren wird die Bezeichnung »Dikaryon« vorgeschlagen, die Entwicklungsstadien mit »Dikaryon« werden als »dihaploide« Phase bezeichnet.

V. Jollos (München).

Scherffel, A. Zwei neue trichocystenartige Bildungen führende Flagellaten. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXVII. S. 94—128.

Im Körper zweier neuer Flagellatenarten, einer niederen Volvocinee und einer Chrysomonadine, fand Verf. zahlreiche stark lichtbrechende stäbchenförmige Gebilde, die Ähnlichkeit mit den Trichocysten der Infusorien aufwiesen. Sie sind von zähflüssiger Konsistenz und stellen einen dickwandigen Hohlcylinder mit engem, weniger dichtem centralem Teil dar. Auf chemische Reize hin werden sie — wenigstens bei der einen Form — momentan ausgeschleudert. Dem färberischen Verhalten nach scheint es sich um Pectinverbindungen zu handeln. — Im Gegensatz zu den Infusorientrichocysten werden die Gebilde durch Jod kaum wahrnehmbar oder überhaupt nicht gefärbt.

V. Jollos (Berlin).

Nägler, K. Über Kernteilung und Fortpflanzung von *Monas gelatinosa* n. sp. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXVII. S. 315—326.

Der Kern von *Monas gelatinosa* besteht im Ruhezustand aus einem großen centralen Binnenkörper und einer Kernsaftzone mit zahlreichen Chromatinkörnern. Er ist von einer Membran umgeben, die sich nach der Peripherie kegelförmig zuspitzt und auch den Geißelansatz umschließt. Der Geißelansatz besteht aus einer chromatischen »Basalplatte« mit vorgelagertem Basalkorn. Auch eine Verbindung mit dem Binnenkörper (Rhizoplast) ist gelegentlich nachweisbar. Bei der Teilung übernimmt die »Basalplatte« die Rolle eines Teilungscentrums, während der Binnenkörper sich auflöst und aus seiner Substanz eine Art Äquatorialplatte hervorgehen läßt. Auf dem Stadium mit ausgebildeter Äquatorialplatte werden von den Basalplatten (bzw. Basalkörnern), also von den Polen der Spindelfigur aus die fehlenden Geißeln ergänzt. — Bei *Ochromonas*, einer niederen Chrysomonadine, finden sich die gleichen Kernverhältnisse, nur fehlt die Basalplatte und damit auch ein morphologisch nachweisbares Teilungscentrum.

V. Jollos (Berlin).

Allescher, M. Über den Einfluß der Gestalt des Kernes auf die Größenabnahme hungernder Infusorien. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXVII. S. 129—171.

Die Ansicht R. Hertwigs, daß der Grad der möglichen Größenreduktion bei hungernden Protozoen von ihren Kernverhältnissen abhänge, wird von der Verfasserin auf Grund zahlreicher Messungen an *Paramaecium*, *Stentor* und *Dileptus* bestätigt. Auf je mehr Stücke die Kernsubstanzen bei den verschiedenen Arten verteilt sind, desto weiter kann auch die Körpergröße bei Hunger reduziert werden.

V. Jollos (Berlin).

Gläser, H. Über Kernteilung, Encystierung und Reifung von *Amoeba mira* n. sp. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXVII. S. 172—194.

Beschreibung interessanter Kernteilungsvorgänge bei einer neuen Süßwasseramöbe: Im vegetativen Leben teilt sie sich mitotisch, zu Beginn der Encystierung kommt es dagegen zunächst zu einer »amitotischen« Zerschnürung des Kernes (die sehr an die Kernteilung mancher Flagellaten, z. B. *Gymnodinium fucorum* erinnert. Ref.). Von den so entstehenden beiden Tochterkernen degeneriert der eine, während der andre sich nach einer Reihe komplizierter Umwandlungen zweimal hintereinander mitotisch teilt. Verf. beschreibt hierbei ein klares Spiremstadium, Synapsis und Zerfall des Fadens in eine Anzahl von Bruchstücken, die als Doppelstäbchen erscheinen können. Er zählt etwa 32 solcher Doppelstäbchen, in der Äquatorialplatte bzw. den Tochterplatten der ersten und ebenso der zweiten Mitose dagegen nur etwa 16 »Chromosomen«. Von den entstehenden vier Kernen gehen wiederum drei unter Pyknose zugrunde. Das Schicksal des vierten ist ungewiß, da weiterhin nur noch (wesentlich anders aussehende) einkernige und einmal eine zweikernige Cyste beobachtet wurden.

In den beschriebenen Vorgängen in der Cyste sieht Verf. Reifungsprozesse. Die erste »amitotische« Teilung deutet er (ganz wie Nägler bei einem analogen Fall bei *Amoeba albida*) als Trennung von generativem und überschüssigem (trophischem) Chro-

matin. Bei den darauf folgenden Reduktionsteilungen glaubt er sehr große Übereinstimmung mit entsprechenden Stadien der Oo- und Spermatogenese der Metazoen feststellen zu können, sollen doch sogar die 32 Zerfallsstücke des Spirems paarweise konjugieren. — Obwohl nun Gläser von den einzelnen beschriebenen Stadien zum Teil überraschend klare Bilder bringt, so erscheinen Ref. nach dem vorliegenden Material noch keine weitgehenden theoretischen Schlüsse zulässig. Denn da das weitere Schicksal der Cysten gänzlich unbekannt ist und sämtliche Stadien nur von einem einzigen fixierten Präparat stammen, so können leicht vegetative, generative und degenerative Prozesse zu einer Reihe kombiniert sein.

V. Jollos (Berlin).

Hirsch, E. Die Entwicklungsgeschichte von *Saccamina*. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXVII. S. 219—253.

Verf. hat verschiedene Entwicklungsstadien dieses großen, kompliziert gebauten Foraminifers beobachtet, und sucht die gewonnenen cytologischen Bilder vom Standpunkte der von Hartmann entwickelten Anschauungen über »polyenergide« Kerne zu deuten. Zweierlei Entwicklungsreihen werden unterschieden, die beide zur Ausbildung zahlreicher kleiner Fortpflanzungskörper (Gameten und Agameten?) führen. Den Ausgangspunkt für beide Reihen bilden Stadien mit großem, binnenkörperreichem Primärkern und einem von »chromidialen« Substanzen erfüllten Plasma. An der Bildung der Sekundärkerne soll sich nun der Primärkern entweder überhaupt nicht oder nur in ganz untergeordnetem Maße (durch Abgabe weiterer chromatischer Substanz) beteiligen; vielmehr sollen diese in der Weise entstehen, daß sich um im Plasma bereits vorhandene und sich weiter teilende zahlreiche Centriole die chromidiale Substanz verdichtet und so allmählich zahlreiche kleine Karyosomkerne hervorgehen läßt, an denen dann wieder Abbauvorgänge beobachtet wurden. Die Sekundärkerne entständen demnach zwar aus den »Chromidien«, aber dennoch aus einzelnen individualisierten und von vornherein durch die Centriolen repräsentierten Anlagen.

Ref. scheint das beigebrachte Tatsachenmaterial in keiner Weise bindende Schlüsse zuzulassen: Weder über die Entstehung der »Centriole« noch über das weitere Geschick der Sekundärkerne, vor allem ihre Umwandlung in Primärkerne weiß Verf. irgendetwas anzugeben. Bei der »Entstehung der Karyosomkerne« durch Kondensierung der Chromidialmassen kann es sich auch nur um verschieden starke Überdeckung bereits ausgebildeter kleiner Kerne eben durch die Chromidialsubstanzen handeln. Endlich ist der in ähnlichen Fällen wiederholt erhobene Einwand, es könne sich bei den »Fortpflanzungskörpern« um Parasiten handeln (durch deren Auftreten auch das Zugrundegehen des »Primärkernes« erklärt würde) gerade hier durch nichts widerlegt.

Die Frage nach den Beziehungen zwischen Primärkern, Sekundärkernen und Chromidien werden also durch die vorliegende Untersuchung nicht geklärt, auch dürfte hierfür *Saccamina* ein wenig geeignetes Objekt sein.

V. Jollos (Berlin).

Sokolow, B. Studien über Physiologie der Gregarinen. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXVII. S. 260—314.

Untersuchungen über die Bewegung verschiedener Gregarinen. Zwei Anschauungen über das Vorwärtsgleiten der Gregarinen sind vertreten worden: nach Schewia-

KOFF sollte es durch das Anwachsen eines ausgeschiedenen Gallertstieles, nach CRAWLEY u. a. hauptsächlich durch aktive Myonemkontraktionen bedingt sein. Beide Anschauungen entsprechen nach SOKOLOW nicht den Tatsachen. Gegen SCHEWIAKOFFS Annahme spricht einmal die Beobachtung, daß von sich fortbewegenden Gregarinen große Klumpen zusammengeklebter Carminkörner nachgeschleppt werden können, sodann die rasche Auflösung der gallertigen Substanz in 1%iger NaCl-Lösung, in der sich die Gregarinen dennoch rasch vorwärts bewegen. CRAWLEY gegenüber wird festgestellt, daß Vorwärtsbewegung ohne jede »Aktivität« allein durch passives Gleiten unter Gallertabscheidung vorkommt, während energische Myonemkontraktionen ohne gleichzeitige Gallertausscheidung zu keiner fortschreitenden Bewegung führt. Nach Ansicht SOKOLOWS wird diese vielmehr durch die »Kraft der Reaktion erklärt, welche bei der Abscheidung der gallertartigen Substanz entsteht«. — Im weiteren untersucht Verf. die Einwirkung verschiedener Lösungen auf die Bewegung und Gallertabscheidung.

V. Jollos (Berlin).

REICH, F. Das Kaninchencoccid *Eimeria stiedae* nebst einem Beitrage zur Kenntnis von *Eimeria falciformis*. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXV. S. 1—42.

Zusammenfassende Darstellung unsrer Kenntnisse vom Kaninchencoccidium und seiner Entwicklung, die in manchen Punkten vom Verf. ergänzt werden. So gelang es ihm zum ersten Male, die Befruchtung genau zu verfolgen sowie schon auf frühen Stadien Unterschiede zwischen den männlichen und weiblichen Gametocyten und den jungen vegetativen Formen festzustellen. Interessant ist ferner der Nachweis einer besonders gestalteten Schizonten- bzw. Merozoitengeneration am Ende der vegetativen Vermehrung, die vor allem durch den Besitz einer Geißel charakterisiert ist und aus der erst die Gametocyten hervorgehen. (Da die Mikrogametem von *E. stiedae* zweigeißelig sind, so finden sich also bei der gleichen Art sowohl ein- wie zweigeißelige Stadien, ein Umstand, der zur Vorsicht bei systematischer Einteilung allein auf Grund der Geißelverhältnisse mahnt. Ref.) — Eingehender werden von Verf. die Kernteilungsvorgänge studiert: Auch bei *E. stiedae* finden sich danach (ebenso wie es für andre Coccidien angegeben, aber auch bestritten wurde) Übergänge von gewöhnlicher Zweiteilung zu »multipler« Vermehrung, indem sich vor Durchschnürung des Kernes das Karyosom intranucleär wiederholt teilt, worauf der Kern schließlich in eine der Zahl gebildeter Caryosomen entsprechende Anzahl von Tochterkernen zerfällt. Zu erwähnen wäre endlich noch, daß die letzten Kernteilungen der Mikrogametocyten sich von den vorangegangenen wesentlich unterscheiden und daher als Reduktionsteilungen gedeutet werden, sowie der Nachweis der Entstehung der Oocystenmembran aus chromatoiden Granula.

V. Jollos (Berlin).

GUILLIERMOND, A. Nouvelles observations sur la sexualité des levures. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXVIII. S. 52—77.

Bei verschiedenen Hefen werden verschiedenartige Sexualprozesse nachgewiesen, die sich in eine Entwicklungsreihe bringen lassen: Während es sich bei den meisten Arten, bei denen vor der Ascusbildung ein Sexualakt festzustellen ist, um typische Isogamie handelt, findet sich bei der »Hefe G« nach PEARCE und BARKER insofern ein

Übergang zur Anisogamie, als der Inhalt der einen der beiden morphologisch gleichen Gameten hier (ähnlich wie bei manchen Spirogyren) in den andern übertritt. Bei *Debaryomyces globosus* kommt es nach Verf. bald zu Iso-, bald zu Anisogamie, indem aus einer Zelle zunächst eine kleinere hervorsproßt, um dann mit der Mutterzelle wieder zu verschmelzen. Bei *Zygosaccharomyces Chevalieri* endlich fand Guilliermond (und nach ihm Nadson u. Konokotine auch bei *Nadsonia fulvescens*) mit seltenen Ausnahmen nur mehr eine derartige anisogame (pädogame) Kopulation.

Weiterhin glaubt G. ein kontinuierliches Schwinden der »sexuellen Affinität« bei verschiedenen Arten und damit einen Übergang zu den asexuellen Hefen nachweisen zu können. Den ersten Schritt auf diesem Wege sieht er in den erwähnten pädogamen Befruchtungsvorgängen; das nächste Stadium zeigen Formen wie *Torulaspora rosei* und *Schwanniomyces occidentalis*, bei denen die einzelnen Zellen ganz wie bei regulär kopulierenden Arten Ausläufer aussenden, die aber untereinander höchstens zur Berührung und nie zur Verschmelzung kommen. Ohne jede Kopulation entstehen dann innerhalb der Zellen die Sporen.

V. Jollos (Berlin).

Mulsow, W. Die Konjugation von *Stentor coeruleus* und *Stentor polymorphus*. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXVIII. S. 363—388.

An einem großen Material hat Verf. bei beiden verwandten Infusorienarten die (sonst nur gelegentlich beobachteten) Konjugationsvorgänge eingehend studiert. In den Grundzügen entspricht ihr Verlauf durchaus dem von andern Arten her bekannten Geschehen: Der Makronucleus und die zahlreichen Mikronuclei bis auf einen in jedem Konjuganten gehen später oder früher zugrunde, während dieser eine Mikronucleus Reifungsprozesse durchmacht und sich dann in einen »stationären« und einen Wanderkern teilt. Die Wanderkerne treten zusammen mit einer Plasmapartie in den andern Konjuganten über, verschmelzen dort mit den »stationären«, und aus dem Kopulationskern entstehen schließlich durch eine Reihe von Teilungen die neuen Mikronuclei- und Makronucleusanlagen. Während die Glieder des alten Makronucleus bis zum Heranwachsen der neuen Anlagen nach Trennung der Konjuganten erhalten bleiben, gehen die Mikronuclei auf verschiedenen Stadien zugrunde, viele von ihnen machen noch »Vermehrungsteilungen« durch, manche vielleicht sogar auch Reifungsprozesse.

Interessant sind die feineren cytologischen Befunde: So entstehen die Spindeln der »Vermehrungsteilungen« der Mikronuclei in der Weise, daß sich zunächst an der einen Seite des vorher homogenen Kernes das Chromatin ansammelt, während sich gegenüber eine »Spitze«, der eine spätere Spindelpol, bildet, von der »Zugfasern« ausgehen. Der zweite Pol erscheint erst später, und gleichfalls später treten helle Polkappen auf, während gleichzeitig das Chromatin von der einen Seite zum Äquator verlagert ist und sich zu einer Äquatorialplatte anordnet. In den Polkappen (bei *St. coeruleus*) sind Centriole nachweisbar. Der Nachweis gelang zwar nur relativ selten — in 5—6 von etwa 200 Paaren —, dafür aber auch einwandfrei. Wohl mit Recht meint daher Verf., daß auch in allen andern Fällen Centriolen vorhanden sein müssen, aber bei ihrer geringen Größe bei der Differenzierung verschwunden oder auch später übersehen sind.

Die Zahl der in die Äquatorialplatte eingehenden »Chromosomen« läßt sich zwar nicht bei *St. coeruleus*, wohl aber bei *St. polymorphus* ziemlich genau feststellen. M. findet hier in den »Vermehrungsteilungen« sowie in den Teilungen des Kopulations-

kernes etwa 56, in den Reifungsteilungen etwa 28 und bei der Teilung in stationären und Wanderkern 14 Elemente, deren Zahl demnach im Laufe der Entwicklung eine doppelte Reduktion erführe! Ob es sich bei diesen chromatischen Elementen um echte Chromosomen handelt, läßt Verf. offen, doch spricht ihr ganzes Verhalten sehr für eine solche Auffassung. Bemerkenswert sind hierbei auch die Vorgänge bei der Bildung der neuen Makronucleusanlagen: Nach Verschmelzung von stationärem und Wanderkern teilt sich der Kopulationskern dreimal hintereinander, und die entstehenden acht Kerne erscheinen zunächst völlig gleichartig. Doch teilen sich normalerweise nur zwei von ihnen abermals und werden zu Mikronuclei, die übrigen sechs wachsen heran. Ihre chromatische Substanz ordnet sich zu einem deutlichen Spirem an, das sodann in eine Anzahl stäbchenförmiger Stücke zerfällt, deren jedes einen Längsspalt aufweist. Auch hier läßt sich nun die Zahl der längsgespaltenen Stäbchen auf etwa 56 bestimmen. Der ganze Vorgang ist wohl als Versuch einer Teilung aufzufassen, die aber nicht durchgeführt werden kann, vielmehr verlieren die Chromosomen bald wieder Anordnung, Form und Färbbarkeit und die Kerne wachsen weiter zu typischen Makronucleusgliedern heran.

V. Jollos (Berlin).

Erdmann, Rh. Experimentelle Ergebnisse über die Beziehungen zwischen Fortpflanzung und Befruchtung bei Protozoen, besonders bei *Amoeba diploidea*. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXIX. S. 84—127.

Bei *Amoeba diploida*, einer zweikernigen gut kultivierbaren Erdamöbe, hatten Hartmann und Nägler zum ersten Male für eine freilebende Amöbenart Kopulation festgestellt: Bei gleichbleibenden Kulturbedingungen encystieren sich in ziemlich regelmäßigen Intervallen von 3—4 Wochen zwei Individuen gemeinsam; in jedem von ihnen kommt es zur Verschmelzung der Kerne und unmittelbar darauf zu Reduktionsteilungen. Gleichzeitig schwindet die Trennung zwischen den beiden Kopulanten, und aus der Cyste kriecht schließlich eine einzige zweikernige Amöbe. Die beiden Kerne der *Amoeba diploida* sind also die während des ganzen vegetativen Lebens getrennt bleibenden, sich stets synchron teilenden und erst zu Beginn der nächstfolgenden Befruchtung wirklich verschmelzenden Gametenkerne. — So weit der Entwicklungsgang unter »normalen« Bedingungen.

Auf Hartmanns Veranlassung versuchte nun Fräulein Erdmann den Ablauf experimentell zu beeinflussen und konnte, wie an andrer Stelle (Festschrift f. R. Hertwig, G. Fischer, Jena) berichtet, durch ständige Überimpfungen auf neuen Nährboden den Eintritt der Kopulation verhindern und schließlich Kulturen erzielen, bei denen auch unter den ursprünglichen »normalen« Bedingungen keine Kopulation erfolgte. Die vorliegende Arbeit bringt nun vor allem die interessanten Ergebnisse der Versuche, diese »asexuell« (»apogam«) gewordenen Amöben wieder kopulationsfähig zu machen: Die »asexuellen« Kulturen waren weniger widerstandsfähig als normale und konnten nur durch häufiges Überimpfen auf frischen Nährboden am Leben erhalten werden, von Zeit zu Zeit bildeten sie eine Art Ruheform. Wurden nun derartige Kulturen mit von normalen *Amoeba diploidea* gewonnenem Cystenextrakt behandelt, so kam es zur Ausbildung regulärer Cysten (ohne vorherigen Zusammentritt zweier Individuen) und in diesen zu einer Verschmelzung der beiden Kerne mit darauf folgenden Reduktionsteilungen. Aus der Cyste kamen also einkernige Amöben heraus — die *Amoeba diploidea* war haploid geworden. Die meisten dieser haploiden Stämme erwiesen sich als äußerst

hinfällig und nur schwer fortzüchtbar, in einigen aber entstanden durch Kernteilung ohne darauf folgende Zellteilung wieder zweikernige Formen, die ganz das Aussehen der normalen *Amoeba diploidea* annehmen und wie diese in regelmäßigen Abständen Kopulationscysten bilden. Unter der Einwirkung des Cystenextraktes waren also die asexuellen Amöben auf dem Umwege über die haploiden Stadien wieder zur Stammform zurückgekehrt! —

In andern Versuchsreihen gelang es der Verfasserin ferner die Vermehrungsfähigkeit der hinfälligen »asexuellen« Amöben durch Behandlung mit Extrakt von normalen vegetativen Kulturen zu heben, sowie in normalen Kulturen den Eintritt der Kopulation durch Einwirkung von (Kopulations-) Cystenextrakt und auch mancher Salzlösungen zu beschleunigen, im letzteren Falle soll es sich aber nicht um eine Verringerung der Zahl, sondern nur um eine Beschleunigung der Teilungen handeln.

Dies die wichtigsten tatsächlichen Befunde der Verfasserin, die aber nicht sehr klar hervortreten, da sie von ihr leider mit einer Fülle, zum Teil recht widerspruchsvoller und anfechtbarer Vergleiche und Spekulationen umgeben werden, auf die im Rahmen einer Besprechung nicht näher eingegangen werden kann.

V. Jollos (Berlin).

Schmidt, H. Faunistische und entwicklungsgeschichtliche Studien an Sarcodinen der Umgegend von Bonn. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXIX. S. 203—247.

Im Anschluß an eine Aufzählung sämtlicher von ihm in der Umgegend von Bonn aufgefundenen Rhizopodenformen beschreibt Verf. zwei neue freilebende und auf Bouillonagar kultivierbare Amöbenarten, deren eine aus einem Tümpel stammte, während sich die andre in den Faeces und dem Futteraufguß eines Schafes fand. Die letztgenannte Art (*A. ovis*) besitzt nach Verf. einen membranlosen Kern, der nur aus einem Karyosom und einer hellen Außenzone besteht. Seine Teilung soll bald amitotisch, bald mitotisch oder genauer: promitotisch vor sich gehen. (Die Ausbildung regulärer Spindeln bei einem Teil der Individuen der gleichen Art spricht doch wohl dafür, daß es sich auch bei der »amitotischen« Durchschnürung nur um weniger klar herausdifferenzierte Stadien einer Promitose handelt. Ref.) Eine Äquatorialplatte wird in keinem Falle ausgebildet. Auch das Vorhandensein von Centriolen wird bestritten. — Bei der zweiten als *Amoeba aquatilis* beschriebenen Art kommt es bei Wasserzusatz zur Ausbildung zweigeißeliger »Schwimmformen«. (Es erscheint daher zweckmäßiger, sie — ebenso wie die entsprechenden von andern Forschern beschriebenen Arten — als Flagellaten zu klassifizieren, die auf festen Nährböden Amöboidformen annehmen. Ref.) Beobachtet wurde eine Vermehrung mehrkerniger Individuen durch Knospung, dagegen keine Zweiteilung. **V. Jollos** (Berlin).

Gross, J. Sporenbildung bei *Cristispira*. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXIX. S. 279—292.

In Objektträgerkulturen von *Cristispira tapetos*, einer großen »Muschelspirochäte« aus dem Kristallstiel von *Tapes decussatus* beobachtete Gross bei der Suche nach Dauerformen den Zerfall der Parasiten in eine der Zahl der »Kammern« der *Cristispira* entsprechende Anzahl von »Sporen«. Jede Kammer grenzt sich zunächst gegen ihre Nachbarn ab und verdickt ihre Wände. Die »Crista« beteiligt sich an diesen Vorgängen

nicht, sondern geht erst ziemlich spät allmählich zugrunde. Die Auflösung des äußeren Verbandes und die Verstreuung der »Sporen« kann auf verschiedenen Stadien erfolgen. Innerhalb jeder Spore kommt es zur Ausbildung einer doppelten Membranverdickung sowie einer Querwand, die aber wieder aufgelöst wird, ein Vorgang, den Verf. mit der Sporenbildung von *Bacillus bütschlii* nach Schaudinn vergleicht.

In den von ihm beobachteten Vorgängen sieht Gross eine echte Sporenbildung der Cristispiren. Sollte sich dies bestätigen, so wäre damit in der Tat das gewichtigste Argument für die Bakteriennatur der Cristispiren sowie für die von Gross vertretene Anschauung ihrer Vielzelligkeit gegeben. Zu fordern wäre aber zunächst der Nachweis einer Entwicklung von Cristispiren aus derartigen Sporen, ein Nachweis, der vom Verf. bisher nicht erbracht werden konnte.

V. Jollos (Berlin).

Hofeneder, H. Über eine neue, kolonienbildende Chrysomonadine. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXIX. S. 293—308.

Beschreibung einer neuen Art, *Chromulina pascheri*, aus der Umgebung von Innsbruck, die unregelmäßig geformte gallertige Kolonien bis zu 150 μ Ausdehnung bildet. Innerhalb der Kolonie vermehren sich die Flagellaten durch Längsteilung. Der Weiterverbreitung und Überwinterung dienen kieselige Cysten, die bei *Chr. pascheri* durch den Besitz einer tellerartigen Erweiterung des für alle Chrysomonadinencysten typischen Porus charakterisiert sind. Aus der Cyste geht eine Anzahl Schwärmer hervor. Der Kern von *Chr. pascheri* ist ein typischer Karyosomkern, der sich durch Promitose teilt, wobei Centriolen und Centrodesmose auf allen Stadien klar nachweisbar sind.

V. Jollos (Berlin).

Alexeieff, A. Systématisation de la mitose dite »primitive«. Sur la question du centriole. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXIX. S. 344—363.

Nachdem Verf. in den letzten Jahren bemüht war, so manchen gut eingebürgerten Protistennamen durch Anwendung der Nomenklaturregeln zu ändern, wendet er in vorliegender Arbeit seinen nomenklatorischen Eifer den bei den Protozoen beobachteten Formen der Kernteilung zu. Das Resultat dieser »Systematisierung« sind nicht weniger als zwölf Namen — abgesehen von der Amitose und vollständigen Mitose!

Ref. erscheint ein derartiges Vorgehen gänzlich wertlos, einmal da verschiedene dieser Typen ineinander übergehen können und sich zum Teil bei der gleichen Art finden; sodann aber, da unsre Kenntnisse auf diesem Gebiete vorläufig noch viel zu gering und ungleichmäßig sind, so daß z. B. verschiedene Typen konstruiert werden können, wo es sich nur um verschiedene Stadien desselben unvollständig bekannten Teilungsprozesses handelt. Ein Beleg hierfür ergibt sich auch aus dem zweiten Teil der Arbeit von Alexeieff selbst, in dem die Kernteilung einer *Malpighiella* aus *Hirudo medicinalis* beschrieben wird. Zunächst streckt sich hier das Karyosom in die Länge; an seinen Polen treten alsdann zwei durch eine Desmose verbundene Centriolen hervor, während die Masse des Karyosoms eine Art Äquatorialplatte bildet. Auch spindelfaserartige Bildungen sind nachweisbar. Die chromatische Substanz wandert schließlich an die Pole und kann hier »zwei Polkörper einer Promitose vortäuschen«. — Auf diesem Endstadium sind auch die Centriole nicht mehr zu sehen, da Alexieeff sie aber vorher nachweisen konnte, so wird ein besonderer Teilungstyp aufgestellt; daß dagegen in

andern Fällen gerade die Stadien mit deutlichen Centriolen entgangen sein können, scheint er nicht zu bedenken (und wendet sich daher auch entschieden gegen die Annahme einer weiten oder gar allgemeinen Verbreitung von Centriolen bei Protozoen).

Recht »eigenartig« sind schließlich die von Verf. entwickelten Anschauungen über die Sexualität bei Protisten. Wie bei vielen Arten findet auch bei der von ihm untersuchten *Malpighiella* bei der Cystenbildung Veränderung der Kernstrukturen und Ausscheidung chromatischer Substanzen statt. Alexeieff sieht nun im Anschluß an R. Hertwig das Wesen der Befruchtung in der Herstellung einer normalen Kernplasmarelation und glaubt daher, «qu'on doit interpréter ce phénomène (d. h. die erwähnten Umsätze in der Cyste) comme ayant la valeur d'un processus sexuel»! (Er vergleicht sogar die Zurückziehung des Cysteninhalts von der Membran mit dem Verhalten des Eies im Moment der Befruchtung!) Ein genaueres Studium gerade auch der Arbeiten von R. Hertwig (z. B. über *Actinosphaerium*) und vieler andrer über Kernveränderungen bei Arten mit bekannten Befruchtungsvorgängen hätte eine derartige Anschauung wohl nicht aufkommen lassen.

V. Jollos (Berlin).

Ornstein, O. Zur Ätiologie der Amöbenruhr. In: Arch. f. Protistenk. Bd. XXIX. S. 78—85.

Die von Schaudinn als Plasmogamie-, Chromidial-, Knospungs- und Encystierungsstadien von *Entamoeba histolytica* beschriebenen Formen wurden von Verf. bei einer Anzahl von Dysenteriefällen wiedergefunden. Doch sind sie gemäß den neueren Anschauungen von Hartmann wohl nur Degenerationsstadien der als *Entamoeba tetragena* beschriebenen Form, zumal da Verf. bei seinen Fällen typische *E. tetragena*-Individuen fand, von denen eine Reihe von Übergängen zu den erwähnten Formen hinleitet. Das massenhafte Vorkommen derartiger Degenerationsformen wird durch die der Materialentnahme fast stets vorangegangene energische therapeutische Behandlung erklärt.

V. Jollos (Berlin).

Stübel, H. Ultramikroskopische Beobachtungen an Muskel- und Geißelzellen. In: Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. CLI. 1913. S. 115.

Höber hat die Hypothese ausgesprochen, daß mit dem Erregungsvorgang eine bemerkenswerte Veränderung des kolloidalen Zustandes der erregbaren Substanz einhergehe. Stübel hat ultramikroskopisch glatte Muskelzellen, Stielmyoide von Vorticellen, Spermatozoen und Flimmerzellen in Erregung bzw. Bewegung untersucht und keine Änderung des Brechungsexponenten der kontraktilen Substanz dabei gefunden.

Erhard (Münster).

Grafe, V. Einführung in die Biochemie für Naturhistoriker und Mediziner. 472 S. Wien u. Leipzig, 1912. F. Deuticke.

Das Buch bringt für den mit der physiologischen Chemie nicht Vertrauten eine kleine Einführung in die organische Chemie und weiterhin in die physiologische Chemie. Besonders eingehend sind die den Zellforscher interessierenden chemisch-physikalischen Vorgänge der Zelltätigkeit berücksichtigt. Außerdem sei noch besonders hervorgehoben, daß auch die Pflanzenphysiologie reichliche Erwähnung findet.

Erhard (Münster).

Backmann, E. L. Die Einwirkung der Befruchtung auf den osmotischen Druck der Eier von *Bufo vulgaris* und *Triton cristatus*. In: Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. CXLVIII. 1912. S. 141—166.

Durch Befruchtung nimmt der osmotische Druck ab und bleibt niedrig bis zum Eintritt der Gastrulation. Dabei findet bei *Bufo* und *Triton* (im Gegensatz zu den Befunden Backmanns und Runnströms an *Rana temporaria*) eine auf Wasseraufnahme beruhende Volumenzunahme statt. Es wird vermutet, daß die Abnahme des osmotischen Drucks nach der Befruchtung mit der Gelumwandlung der Kolloide und Adsorption der Kristalloide der Eizelle in Zusammenhang steht.

Erhard (Münster).

Höber, R. Ein zweites Verfahren, die Leitfähigkeit im Innern von Zellen zu messen. In: Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. CXLVIII. 1912. S. 189—221.

»Es wird gezeigt, daß man die 'innere Leitfähigkeit' von Zellen in der Weise messen kann, daß man einen Kapazität und Selbstinduktion enthaltenden Kreis in Schwingungen versetzt und die Dämpfung der Schwingungen bestimmt, welche zustande kommt, wenn man eine Suspension der Zellen als Kern ins Innere der Selbstinduktion hineinbringt. Es ergibt sich, daß die Blutkörperchen eine innere Leitfähigkeit besitzen, die an Größe der Leitfähigkeit einer 0,1—0,4%igen Kochsalzlösung gleichkommt.«

Erhard (Münster).

Faussek, W. Zur Frage über den Bau des Zellkernes in den Speicheldrüsen der Larve von *Chironomus*. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXXII Abt I. 1913. S. 39—60.

Kernkörperchen wie Kernfaden der *Chironomus*-Speicheldrüsenkerne bestehen nach W. Faussek aus der gleichen Substanz — im Gegensatz zu einer früher (Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXVI. I. 1910) von mir geäußerten Ansicht. — Beide setzen sich aus oxyphiler und basophiler Substanz zusammen. Der Kernfaden setzt sich (in Übereinstimmung mit den Befunden Balbianis, Alverdes' und den meinen) aus Scheiben und nicht wie Herwerden glaubt, aus Spiralen zusammen. Die Balbianischen Ringe, bzw. Doppelringe müssen nicht immer vorhanden sein und bestehen, wenn sie vorhanden sind, aus oxyphiler Substanz. Die Kerne enthalten außerdem ein auch von mir beschriebenes Liningerüst, dem oxyphile Körnchen eingelagert sind. — Zusammenstellung weiterer ähnlicher Kernformen.

Erhard (Münster).

Handbuch der vergleichenden Physiologie, herausgeg. v. H. Winterstein. Bd. IV. 20. Liefer. Jena 1912. G. Fischer.

Baglioni, S. Die niederen Sinne. S. 520—554.

Verf. behandelt hier zusammenfassend die Hautsinne (Drucksinn, thermische Sinne, Schmerzsinn) und die chemischen Sinne (Geschmackssinn und Geruchssinn). Man erkennt aus dieser Arbeit, welch dankbares Feld der Forschung sich auf diesem noch wenig bearbeiteten Gebiet — Verf. kann z. B. für thermische Sinne nur zwei Literaturangaben bringen — bieten würde.

Erhard (Münster).

Handbuch der vergleichenden Physiologie, herausgeg. v. H. Winterstein. Bd. IV. 20. u. 21. Lieferung.

Hess, C. Gesichtssinn. S. 555—840. (Auch als Sonderabdruck im Buchhandel erschienen.)

Wenn auch natürlich diese Arbeit mit der Zellforschung im engeren Sinne nur wenig Berührungspunkte bietet, so wird sie doch wegen der universellen Art, mit der der Verf. sein Thema löst und der allgemein biologisch interessanten Ergebnisse das lebhafteste Interesse jedes Biologen erwecken. Sie ist eingeteilt in 1) Lichtsinn, 2) Dioptrik, 3) Akkommodation. Sichtbare Lichtwirkungen am Sehorgan. Klinische, zoologische, histologische, physikalische und physiologische Beobachtungen, zum großen Teil Studien des Verfassers selbst, sind hier harmonisch verwertet. Als wichtigstes Ergebnis sei Folgendes herausgegriffen: Die Fische und die sämtlichen wirbellosen Tiere sind farbenblind. Eine erstaunlich große Literaturbeherrschung machen das Buch zu einem unübertrefflichen Nachschlagebuch, ohne daß durch die Fülle der Tatsachen die Einheitlichkeit der Darstellung oder das Herausarbeiten der großen Gesichtspunkte gelitten hätte. Liest man solche Kapitel, wie z. B. über den Gesichtssinn der einzelnen Wirbellosen, wobei den Zellforscher besonders das die Einzelligen behandelnde interessieren wird, so wird man immer wieder staunen, daß es ein im praktischen Leben stehender Kliniker war, der dazu die Zeit fand. Auch in diesem Punkt ist das Buch in der Literatur einzig dastehend.

Erhard (Münster).

Günther, Siegmund. Geschichte der Naturwissenschaften. 2. Aufl. Leipzig. Ph. Reclam jun.

Ein kurzes, alle Zweige der Naturwissenschaften in gleicher Weise in objektivster Darstellung berücksichtigendes Buch, das sich auch als Nachschlagebuch wegen der zahlreichen Einzeltatsachen und Daten, die es enthält, vorzüglich eignet.

Erhard (Münster).

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

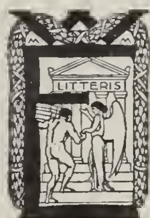
VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



ELFTER BAND
ERSTES HEFT
MIT 8 TEXTFIGUREN UND 5 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 22. JULI 1913



LEIPZIG UND BERLIN
VERLAG VON WILHELM ENGELMANN
1913

Preis: M. 16.—.

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Professor Dr. **R. Goldschmidt**, Zoologisches Institut, **München**, Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar ℳ 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt. Dissertationen sind von der Honorierung ausgeschlossen.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

Inhalt des 1. Heftes.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin

VERERBUNGSLEHRE

MIT BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DES MENSCHEN, FÜR STUDIERENDE, ÄRZTE UND ZÜCHTER

VON

Dr. LUDWIG PLATE

PROFESSOR DER ZOOLOGIE UND DIREKTOR DES ZOOLOGISCHEN INSTITUTS UND DES PHYLETISCHEN MUSEUMS DER UNIVERSITÄT JENA

MIT 179 FIGUREN UND STAMMBÄUMEN IM TEXT UND 3 FARB. TAFELN
(HANDBÜCHER DER ABSTAMMUNGSLEHRE BAND II)
VIII u. 520 SEITEN. GR. 8. PREIS GEH. *M* 18.—, GEB. *M* 19.—

... Anderseits erscheint den Vererbungserscheinungen beim Menschen in umfassender und origineller Weise besondere Aufmerksamkeit gewidmet, indem für etwa 60 erbliche normale wie pathologische Merkmale an der Hand zahlreicher Familienstammbäume ein Mendelsches Verhalten dargetan oder wenigstens wahrscheinlich gemacht wird. Wichtig ist Plates Schilderung der Scheinvererbung. Wertvoll sind die Tabellen über bisher studierte Merkmalspaare, welche bezüglich des zoologischen Materials ziemlich vollständig sind. Recht interessant sind die angeführten, durch Präparate des Jenenser phyletischen Museums belegten Beispiele von tierischen Artbastarden. Wertvoll und anregend ist Plates zusammenfassende Darstellung der Abweichungen von der typischen alternativen Vererbung und im Anschlusse daran seine Schilderung der Pfropfbastarde oder Chimären, welche in den letzten Jahren besonders studiert wurden. Darauf folgt die 95 Seiten umfassende Darstellung der Vererbung beim Menschen, die mit einer sehr wertvollen Tabelle schließt über die Wertigkeit von indifferenten Merkmalen und Mißbildungen sowie von Krankheiten, die teils abhängig, teils unabhängig vom Geschlecht sind. Das hier unter großer Mühewaltung und Umsicht zusammengebrachte Material ist — trotz seiner unvermeidlichen Ungleichartigkeit und Lückenhaftigkeit — besonders für den Arzt ungemein wertvoll und erfordert das besondereInteresse der Mediziner für Plates Werk. Die abschließenden Kapitel behandeln das Verhältnis von Abstammungslehre und Mendelismus sowie in Kürze auch seine Bedeutung für die Tierund Pflanzenzüchtung. Der Gesamtüberblick läßt uns in Plates Werk eine wertvolle Bereicherung der zusammenfassenden Literatur über die Vererbungsprobleme erblicken. Das Buch sei aber nicht bloß den engeren Fachkollegen, sondern auch dem weiteren Leserkreise der Ärzte und Naturforscher auf das nachdrücklichste empfohlen. E. v. Tschermak.
Wiener Medizinische Wochenschrift. 63 Jg. Nr. 20. 10. Mai 1913.

.... Keines der bisher erschienenen Lehrbücher der Vererbungswissenschaft wendet sich so stark an den Praktiker, das sind wir Ärzte und die Tierzüchter, wie das Platesche. Plate trägt die Ergebnisse der experimentellen Vererbungsforschung, zu denen er selbst so viel beigetragen hat, vor, indem er immerfort Beziehungen zum Menschen sucht. Darin sehe ich den Hauptvorzug des prächtigen Lehrbuches, daß es gerade beim Arzt die Lust zu scharfer kritischer Betrachtung dieser oft oberflächlich und leicht behandelten Fragen weckt. Die Sprache des Buches ist klar und eindringlich, die Abbildungen, namentlich auch zahlreiche Stammbäume, vortrefflich.
Münchner Medizinische Wochenschrift. 60. Jg. Nr. 16. 22. April 1913.

.... Von allgemein-biologischem Interesse sind die Ausführungen über den Valenzwechsel biologischer Radikale zur Erklärung des Generationswechsels (S. 226), über die Natur der Erbfaktoren (S. 413—429), über den Artbegriff (S. 488ff.). Die kurzen Bemerkungen über die Bedeutung des Mendelismus für die Entwicklungslehre im Sinne Darwins (S. 471—475) sind geeignet, irreführende Behauptungen über den Wert des Darwinismus richtig zu stellen.
Anatomischer Anzeiger. 43. Bd. Nr. 16. 3. April 1913.

Wie auch andere Veröffentlichungen von Plate, empfiehlt es sich durch seine leicht verständliche Darstellungsweise und durch die Ausstattung mit zahlreichen, gut ausgewählten Abbildungen, deren Zahl sich auf 179 beläuft. Ein unterscheidendes Merkmal den anderen Lehrbüchern gegenüber ist aber besonders darin zu suchen, daß Plate in verschiedenen Abschnitten die Beziehungen der neuen Errungenschaften der Vererbungslehre zu der Abstammungs- und Selektionstheorie ausführlicher erörtert. *Archiv für mikroskop. Anatomie. Bd. 82. Heft 3.*

Das neue Buch von Plate, welches mit zahlreichen Illustrationen versehen ist, gibt eine ausgezeichnete Darstellung der modernen Auffassung. Die scharfe Umgrenzung des Themas und die klare Fassung der Begriffe muß dem Verfasser zum besonderen Verdienst angerechnet werden. ... Während manche Vererbungstheoretiker (z. B. Johannsen) von dem Glanze des Mendelschen Gesetzes so geblendet sind, daß sie überhaupt alle anderen Erklärungen der Vererbungserscheinungen für überflüssig erachten, hält sich Plate von dieser Einseitigkeit frei, indem er anerkennt, daß die Chromosomentheorie die Vererbungserscheinungen aus cytologischen Tatsachen zu erklären vermag. Plate berichtet eingehend über die Bestrebungen amerikanischer, englischer und deutscher Forscher, die Vererbung der einzelnen Eigenschaften beim Menschen aus dem genannten Gesetz zu erklären. Sehr wichtig ist der Abschnitt über die Vorbeugung gegen die Weitervererbung erblicher Krankheitsanlagen, also die planmäßige Rassenverbesserung (Eugenik).
Neue Weltanschauung. 6. Jg. Heft 7. 1913.

Prof. Plate's excellent book gives a clear and comprehensive account of the present state of the study of heredity. It is certainly the best general account of this side yet written, and for this reason, if for no other, should be of special value to students of eugenics and to medical men. *Nature.*

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN
VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



ELFTER BAND
ZWEITES HEFT
MIT 17 TEXTFIGUREN UND 8 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 16. SEPTEMBER 1913



LEIPZIG UND BERLIN
VERLAG VON WILHELM ENGELMANN
1913

Preis: M. 17.—.

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Professor Dr. **R. Goldschmidt,** Zoologisches Institut, **München,** Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar ℳ 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt. Dissertationen sind von der Honorierung ausgeschlossen.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

Inhalt des 2. Heftes.

In diesem Hefte befindet sich je ein Prospekt der Verlagsbuchhandlungen B. G. Teubner, Leipzig, und Wilhelm Engelmann, Leipzig und Berlin.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN
VON
DR. RICHARD GOLDSCHMIDT
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



ELFTER BAND
DRITTES HEFT
MIT 26 TEXTFIGUREN UND 9 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 28. OKTOBER 1913



LEIPZIG UND BERLIN
VERLAG VON WILHELM ENGELMANN
1913

Preis: M. 20.—.

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Professor Dr. **R. Goldschmidt,** Zoologisches Institut, **München,** Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar ℳ 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt. Dissertationen sind von der Honorierung ausgeschlossen.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

Inhalt des 3. Heftes.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



ELFTER BAND
VIERTES HEFT
MIT 4 TEXTFIGUREN UND 8 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 9. DEZEMBER 1913



LEIPZIG UND BERLIN
VERLAG VON WILHELM ENGELMANN
1913

Preis: M. 20.—.

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Professor Dr. **R. Goldschmidt,** Zoologisches Institut, **München,** Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar ℳ 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt. Dissertationen sind von der Honorierung ausgeschlossen.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

Inhalt des 4. Heftes.

Verlag von WILHELM ENGELMANN in Leipzig und Berlin

Einführung in die Vererbungswissenschaft

In zweiundzwanzig Vorlesungen für Studierende, Ärzte, Züchter

von

Dr. Richard Goldschmidt

a. o. Professor der Zoologie an der Universität München

Zweite völlig umgearbeitete und stark vermehrte Auflage

Mit 189 Abbildungen im Text

XII u. 546 S. Gr. 8. Geheftet *M* 13.—; in Leinen geb. *M* 14.—

.... Goldschmidts Buch wird sich vor allem den Lesern empfehlen, die sachliche und gleichmäßige Belehrung über das Gesamtgebiet der Erblichkeitslehre wünschen, dem noch ganz Unerfahrenen wird es eine sehr brauchbare Einführung, aber auch dem Forscher ein handliches Hilfsmittel zum Nachschlagen und Einordnen neuer Erfahrungen sein.

Archiv für mikr. Anatomie.

.... Ich stehe nicht an, das Goldschmidtsche Buch an die erste Stelle zu setzen und zur ersten Einführung besonders zu empfehlen ....

Archiv für Rassen- und Gesellschaftsbiologie.

. .. Doch ist dieses Buch noch mehr als eine bloße Einführung für Lernende. Es ist die erste das Gebiet wirklich umspannende Gesamtdarstellung der experimentellen Vererbungslehre, die auch demjenigen Fachbiologen, dem die Vererbungsfragen bisher ferner gelegen haben, einen zuverlässigen Führer bietet, der ihn bei aller Selbständigkeit des Urteils in keiner Weise bevormundet, und die selbst demjenigen, der sich seit Jahren eingehend mit diesen Fragen beschäftigt hat, Neues und Anregendes zu sagen hat. *Biologisches Centralblatt.*

.... the book is very well written and well made and will be a valuable aid to both teachers and students. *Science.*

.... Goldschmidts umfangreiches Vorlesungswerk erhält sein eigenartiges Gepräge durch die ausgiebige Heranziehung auch älterer Erfahrungen auf dem Gebiete der Erbtheorie. Stehen weiterhin die Bücher sowohl von Haecker wie von Baur in merklichem Maße unter dem Banne der eigenen Forschungsrichtung der Verfasser, so widmet Goldschmidt ganz gleichmäßig allen Einzelproblemen seine Aufmerksamkeit, und nur hier und da treten einmal die persönlichen Erfahrungen und Überzeugungen des Autors etwas mehr in den Vordergrund. ...Goldschmidts Buch wird sich vor allem den Lesern empfehlen, die sachliche und gleichmäßige Belehrung über das Gesamtgebiet der Erblichkeitslehre wünschen; dem noch ganz Unerfahrenen wird es eine sehr brauchbare Einführung, aber auch dem Forscher ein handliches Hilfsmittel zum Nachschlagen und Einordnen neuer Erfahrungen sein.

Zentralblatt für Zoologie, allgemeine und experimentelle Biologie.

In diesem Hefte befinden sich Ankündigungen der Verlagsbuchhandlung Wilhelm Engelmann in Leipzig und Berlin über »Dannemann, Die Naturwissenschaften«, »Newcomb-Engelmann, Populäre Astronomie«, 5. Aufl. und »Weber-Baldamus, Weltgeschichte«, 21. u. 22. Aufl.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.


THE
BOUND TO PLEASE
Heckman Bindery INC.
JAN. 65
N. MANCHESTER.
INDIANA

